



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“CARACTERIZACIÓN MORFO-FISIOLÓGICA DE GRUPOS
PREDOMINANTES PRESENTES EN LA MICROBIOTA
PROCEDENTE DE UN SUELO CONTAMINADO CON
AGROQUÍMICOS PARA LA RECUPERACIÓN DEL MISMO
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE BIOESTIMULACIÓN”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: NATHALY CRISTINA DUMAN CHAVEZ

TUTOR: ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ GARCÍA

Riobamba-Ecuador

2018

© 2018, Nathaly Cristina Duman Chavez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Investigación: “CARACTERIZACIÓN MORFO-FISIOLÓGICA DE GRUPOS PREDOMINANTES PRESENTES EN LA MICROBIOTA PROCEDENTE DE UN SUELO CONTAMINADO CON AGROQUÍMICOS PARA LA RECUPERACIÓN DEL MISMO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE BIOESTIMULACIÓN”, de responsabilidad de la señorita Duman Chavez Nathaly Cristina ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE

FECHA

FIRMA

ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ GARCÍA

DIRECTOR DEL TRABAJO

DE TITULACIÓN

ING. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Duman Chavez Nathaly Cristina, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 01 de marzo de 2018

.....

Duman Chavez Nathaly Cristina

C.I. 2200043574

Yo, Duman Chavez Nathaly Cristina soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

NATHALY CRISTINA DUMAN CHAVEZ

C.I. 2200043574

DEDICATORIA

El presente trabajo es dedicado primeramente a Dios por permitirme tener vida y salud, sobre todo fortaleza para poder lograr cada propósito a lo largo de mi carrera.

A mis padres Amelia Chavez y Jorge Duman quienes con su mayor esfuerzo han podido brindarme los recursos necesarios, por su apoyo y confianza a lo largo de la carrera, por brindarme los consejos necesarios, sus enseñanzas y amor han sabido mostrarme el camino hacia la superación siendo ellos un gran ejemplo en cada día de mi vida.

A mi familia en general por el apoyo que siempre me brindaron en cada paso de mi carrera universitaria.

Nathaly Duman

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme sabiduría y fortaleza para enfrentar todas las situaciones que se presentaron a lo largo de mi carrera, y que con su bendición se ha podido culminar con éxito una meta más en mi vida.

A mis padres Amelia Chavez y Jorge Duman quienes con su amor y trabajo me educaron y me brindaron un apoyo incondicional en toda mi formación profesional, y me enseñaron que con esfuerzo, constancia y dedicación todo se puede lograr en esta vida.

Agradezco también al Ing. Juan González y a la Ing. Ana Cunachi por haberme dado la oportunidad de recurrir a su capacidad y sus conocimientos científicos, y sobre todo por la paciencia que me brindaron durante el desarrollo del presente trabajo.

En general, a la Escuela Superior Politécnica Chimborazo por brindarme los recursos y el conocimiento para poder seguir con mi carrera, a los diferentes docentes que también han sido parte de este logro ya que día a día me brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante.

A mis amigos, ya que con su compañerismo y apoyo moral me brindaron las ganas de seguir adelante para culminar con éxito mi carrera.

Nathaly Duman

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xv
SUMMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1 MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Antecedentes de la investigación	4
1.2 Marco Conceptual	5
1.2.1 Suelo	5
1.2.2 Propiedades del suelo	5
1.2.3 Usos del suelo.....	8
1.2.4 Agroquímicos	9
1.2.5 Fuentes de contaminación.....	12
1.2.6 Biorremediación de suelos contaminados	14
1.2.7 Bioaumentación	14
1.2.8 Bioestimulación	17
CAPÍTULO II	
2 MARCO METODOLÓGICO	19
2.1 Diseño Experimental	19
2.1.1 Tipo y Diseño de Investigación	19

2.1.2	<i>Unidad de análisis</i>	19
2.1.3	<i>Población de estudio</i>	19
2.1.4	<i>Tamaño de la muestra</i>	20
2.1.5	<i>Selección de la muestra</i>	20
2.2	Metodología	20
2.2.1	<i>Localización de la experimentación</i>	20
2.2.2	<i>Lugar de muestreo</i>	20
2.2.3	<i>Toma de muestras</i>	21
2.2.4	<i>Análisis iniciales de las muestras</i>	22
2.2.5	<i>Purificación de microorganismos</i>	25
2.2.6	<i>Codificación y almacenamiento de cultivos</i>	26
2.2.7	<i>Caracterización morfo-fisiológica de microorganismos, observación en el microscopio</i>	27
2.2.8	<i>Pre ensayo para determinar la concentración de Urea y Melaza en el que se aplicaran en el ensayo final</i>	30
2.2.9	<i>Proceso de producción de microorganismos que se inocularan en el ensayo final</i> .	32
2.2.10	<i>Instalación del Ensayo final</i>	39
2.2.11	<i>Análisis estadístico</i>	42
 CAPÍTULO III		
3	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
3.1	Lugar de Muestreo y localización de la experimentación	43
3.2	Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado (Inicial).	43

3.3	Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado (Monitoreo-Verificación).	45
3.4	Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g en el preensayo de suelo bio-estimulado (Urea/melaza).	48
3.5	Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos).	50
	CONCLUSIONES	60
	RECOMENDACIONES	61
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Métodos diferentes para la bioaumentación del suelo y factores a considerar.	15
Tabla 2-2 Resultados total de microorganismos purificados	29
Tabla 3-2 Tratamientos para el Pre ensayo de Bioestimulación.	31
Tabla 4-2 Tratamientos Determinados para el Ensayo Final	40
Tabla 5-3 UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Inicial).	43
Tabla 6-3 Prueba de Tukey para la UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Inicial).....	44
Tabla 7-3 UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Inicial).	44
Tabla 8-3 Prueba de Tukey para la UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Inicial).....	45
Tabla 9-3 UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Monitoreo-Verificación).	45
Tabla 10-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Monitoreo-Verificación).	46
Tabla 11-3 UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Monitoreo-Verificación).	46
Tabla 12-3 Prueba Tukey UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Monitoreo-Verificación).	47
Tabla 13-3 UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 48 horas.	48
Tabla 14-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 48 horas	48
Tabla 15-3 UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 72 horas.	49
Tabla 16-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 72 horas.	49
Tabla 17-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.....	50
Tabla 18-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.....	50
Tabla 19-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.....	51

Tabla 20-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.....	51
Tabla 21-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.....	52
Tabla 22-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.....	52
Tabla 23-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.....	53
Tabla 24-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.....	53
Tabla 25-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar PDA.....	54
Tabla 26-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar PDA.....	54
Tabla 27-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar nutriente.....	55
Tabla 28-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.....	55
Tabla 29-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.....	56
Tabla 30-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.....	56
Tabla 31-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.....	57
Tabla 32-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.....	57
Tabla 33-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.....	58

Tabla 34-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.....	58
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A Registro fotográfico conteo inicial de UFC/ g suelo

ANEXO B Registro Fotográfico aislamiento y purificación de microorganismos

ANEXO C Registro fotográfico observación de microorganismos en el microscopio

ANEXO D Instalación de Pre ensayo para determinar el porcentaje Urea-Melaza en la Bioestimulación.

ANEXO E Preparación de Pulls microbianos para aplicar en la bioestimulación.

ANEXO F Instalación Ensayo Final

ANEXO G Folleto_caracterización_morfofisiológica_microbiota

ANEXO H Resultados de la purificación y caracterización morfo-fisiológica de la microbiota estudiada

ANEXO I Resultado final caracterización microscópica bacterias

ANEXO J Resultado final caracterización microscópica hongos

ANEXO K Resultado final caracterización microscópica actinomicetos

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo caracterizar la morfo-fisiología de grupos predominantes procedentes de la microbiota de un suelo agrícola; se utilizaron dos muestras de suelos (cultivado con tomate; cultivado con frutilla). Para la inoculación y aislamiento de microorganismos se utilizó dos medios de cultivo Agar de papa-dextrosa (PDA) y Agar Nutriente; inicialmente se realizaron diluciones de 10^1 hasta 10^7 , para sembrar y escoger los microorganismos representativos clasificándolos en: hongos, bacterias y actinomicetos, obteniendo un total de 132 microorganismos. Posteriormente fueron observados microscópicamente para añadirlos en sus grupos en el caso de las bacterias se realizó tinción de Gram clasificándolas en Gram+ y Gram-; después se procedió a la instalación del ensayo final realizando una bioestimulación; para la cual se hizo un pre ensayo con urea y melaza para determinar su concentración; en el suelo cultivado con tomate con una dosificación 50-50 (urea- melaza) y en el suelo cultivado con frutilla 40-60 (urea- melaza). En la producción de los microorganismos seleccionados se realizaron tres caldos, para las bacterias se realizó de forma casera el caldo LB (Luria Bertani), así mismo se realizaron caldos de PDA casero para el caso de los hongos y actinomicetos añadiendo 50 μ l de cada cepa. Se establecieron 8 tratamientos con 3 repeticiones, en las cuales se añadieron 200 g de suelo con la dosificación de urea-melaza establecida y 20 ml de los diferentes caldos según el tipo de tratamiento. Finalmente se realizaron las diluciones 10^7 , 10^8 , 10^9 de los diferentes tratamientos y se sembraron en los medios de cultivo establecidos, observando un mayor crecimiento de los microorganismos a los 15 días, mediante análisis estadístico se determinó que el mejor tratamiento para el cultivo de tomate fueron los T2 y T8; y para el cultivo de frutilla fueron los T1, T4 y T6.

Palabras Clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <CARACTERIZACIÓN MORFO FISIOLÓGICA>, <SUELOS AGRÍCOLAS>, <MICROBIOTA>, <BIOESTIMULACIÓN>, <AGROQUÍMICOS>

SUMMARY

The following investigation's objective was to characterize the morpho-physiology of predominant groups from the microbiota of an agricultural land; two soil samples (cultivated with tomato; cultivated with strawberry). For the inoculation and isolation of microorganisms, two culture media were used: Potato Dextrose Agar (PDA) and Nutrient Agar; initially dilutions were made from 10^{-1} to 10^{-7} , to plant and choose the representative microorganisms by classifying them into fungi, bacteria, and actinomycetes, obtaining a total of 132 microorganisms. Later, it was observed microscopically to add in groups. In the case of bacteria, Great Gram + and Gram-staining was performed; Afterwards, the final test was installed, performing a biostimulation; for which a pre-test with urea and molasses to determine its concentration; in the soil cultivated with tomato with a dosage 50-50 (urea-molasses) and in the soil cultivated with strawberry 40-60 (urea-molasses). In the production microorganisms sectioned were made three broths, for the bacteria the LB broth was made homemade (Luria Bertani), also it used homemade broth of PDA for the case of fungi and actinomycetes adding 50 u1 of each one. It was established 8 treatments with 3 repetitions, in which added 200 g of soil with dosage and established urea-molasses and 20 ml of the different broths according to the type of treatment. Finally, the 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} dilutions of the different treatments were made and planted in the established culture media, observing a greater growth of the micro-organisms at 15 days, through statistical analysis it was determined that the best treatment for the tomato cultivation were T^2 and T^8 ; and for strawberry cultivation were T^1 , T^4 and T^6 .

Keywords: <BIOTECHNOLOGY>, < CHARACTERIZATION MORPHO PHYSIOLOGY>
<AGRICULTURAL LAND >, <MICROBIOTA>, <BIOSTIMULATION>, <AGRO-CHEMICALS>

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

La parroquia San Luis del cantón Riobamba provincia de Chimborazo en la actualidad es reconocida como un territorio cuya principal actividad económica es la agricultura y su producción se ha destacado en el mercado local y nacional. Gracias a la bondad de sus suelos los principales productos agrícolas que destacan son: Tomate, Frutilla, Alfalfa, entre otros. (Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial 2015).

Los suelos agrícolas de la parroquia presentan algunos problemas entre los que destacan, la carencia de fósforo en el suelo por lo que se ha masificado el uso de fertilizantes fosfatados en los mismos, otro problema importante es el uso indiscriminado de pesticidas para controlar plagas y enfermedades durante todo el ciclo de producción y así obtener un producto de calidad, para su posterior comercialización. (Serrano, 1999).

Los agroquímicos fertilizantes son fuente de carbono y nitrógeno y se degradan principalmente por la actividad microbiana. La entrada continua de estos compuestos en el ecosistema del suelo puede afectar los microorganismos y su actividad, lo que ocasiona modificación de los procesos biológicos esenciales para la fertilidad y la productividad de los cultivos (Alvear et al., 2006; Cycoñ et al., 2010).

Por tal razón es preciso formularse la pregunta principal del problema:

¿La caracterización y cuantificación de la microbiota procedente de un suelo agrícola mediante la aplicación de bioestimulación permitirá establecer la fertilidad del suelo mediante el crecimiento microbiano?

Justificación de la investigación

En la actualidad, las transformaciones que se han producido en el medio ambiente debido a procesos humanos específicos, han ocasionado una necesidad imperante de mirar hacia la protección del medio ambiente, y esto precisamente se ha reflejado en las normas que nuestra Constitución ha establecido para garantizar que dicha protección sea efectiva. De ahí que el Art. 86 de la Norma Suprema, en su inicio primero, dispone: "El Estado protegerá el derecho de la población a vivir en un medio ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice un desarrollo sustentable. Velará para que este derecho no sea afectado y garantizará la preservación de la naturaleza".

La evaluación se enmarca en el concepto de "Agricultura Sostenible", el uso de fertilizantes y pesticidas puede presentar riesgos de contaminación ambiental que son de interés evaluar, evitar y si es el caso corregir.

En la presente investigación se realizará el estudio de la microbiota procedente de un suelo contaminado con agroquímicos.

La microbiota de un suelo es una importante generadora de nutrientes, y la actividad de estos son esenciales para la fertilidad y productividad de cultivos; en los últimos años el uso indiscriminado de pesticidas ha provocado la pérdida de los microorganismos autóctonos y con esto la fertilidad de los suelos.

Realizar una caracterización y cuantificación de los microorganismos presentes en un suelo contaminado con pesticidas permitirá la recuperación del mismo ya que mediante la siguiente investigación se evaluará los microorganismos que han sido más resistentes a estos contaminantes y aplicar la bioestimulación; que consiste en la adición de nutrientes a los suelos y / o aguas residuales para nutrir los microorganismos nativos o presentes y, en consecuencia mejorar la biodegradación de contaminantes.

Esta investigación está enmarcada dentro de los lineamientos y del perfil profesional de la carrera de Ingeniería en Biotecnología Ambiental, permitiendo la recuperación de la diversidad microbiana de un suelo contaminado con pesticidas y mejorar la fertilidad del mismo.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

- Caracterizar morfo-fisiológicamente los grupos predominantes presentes en la microbiota procedente de un suelo contaminado con agroquímicos para la recuperación del mismo mediante la aplicación de bioestimulación.

Objetivos Específicos

- Realizar la purificación y cuantificación de las colonias predominantes presentes en las muestras de suelo.
- Realizar la descripción morfo-fisiológica de los grupos predominantes obtenidos en las muestras de suelos.
- Aplicar la bioestimulación a nivel de laboratorio de acuerdo a las características de la microbiota identificada.

CAPÍTULO I

1 Marco Teórico

1.1 Antecedentes de la investigación

El suelo era considerado como un medio con capacidad prácticamente ilimitada para almacenar y ser depósito último de residuos contaminantes sin originar efectos nocivos, al menos inmediatos (IGME, 1996). Un suelo contaminado puede definirse como aquel donde se encuentran presentes uno o más materiales peligrosos y/o residuos de toda índole y que pueden constituir un riesgo para el ambiente y la salud (Saval, 1999).

La extraordinaria diversidad biológica de la tierra, no solo comprende a los animales, plantas, hongos y otros organismos macroscópicos, sino también a los millones de especies microscópicas, distribuidas en los hábitats más diversos que incluyen a suelos y aguas contaminados con agroquímicos. Debido al papel particular que juegan las bacterias en los ecosistemas y su importancia en la vida del hombre, se han empezado a investigar sus patrones de diversidad y los factores que los regulan (Horner-Devine et al. 2003). Los estudios de diversidad microbiana en sitios con constantes aplicaciones de plaguicidas permiten la caracterización e identificación de especies bacterianas con un potencial de aplicación en procesos de biorremediación de sitios contaminados y/o el tratamiento de residuos caducos u obsoletos.

Se estima que 4.5 billones de libras de plaguicidas, son comercializados en todo el mundo anualmente (Klaasen 2001). Están incluidos insecticidas, rodenticidas, fungicidas, herbicidas y fumigantes, de uso agrícola, industrial y doméstico. Esto genera grandes cantidades de residuos y productos obsoletos, dispuestos de manera inadecuada, principalmente de la familia de los organofosforados, que son los más usados a nivel mundial.

La presencia de bacterias capaces de metabolizar compuestos organofosforados ha recibido una especial atención, debido a que han sido el resultado de un proceso de evolución de poblaciones microbianas autóctonas que se han adaptado a estos contaminantes y porque proveen la posibilidad de ser usadas in situ en la detoxificación de ambiente severamente contaminados. Por esta razón, estos sitios son los más apropiados para el aislamiento de cepas capaces de crecer y en consecuencia de degradar estos xenobióticos (Ortiz-Hernández et al. 2001).

1.2 Marco Conceptual

1.2.1 Suelo

El suelo es un recurso natural no renovable, siendo el soporte de los ecosistemas terrestres, ya sean naturales o productivos. La importancia de la calidad del suelo influencia en los sistemas agrícolas, donde la productividad va a depender de la buena conservación del suelo. (Meco Ramón, et al, 2012, pp. 11-13)

1.2.2 Propiedades del suelo

En el suelo se debe considerar algunas propiedades físicas, químicas y biológicas.

Propiedades físicas

- **Estructura**

La estructura del suelo hace referencia a la composición mecánica de la capa superior del suelo, es decir, la agregación de partículas individuales de suelo en unidades mayores, dichos agregados individuales se les conoce con el nombre de peds. Los suelos que no presentan agregados con límites existentes naturalmente (peds), se consideran desprovistos de estructura. (Buckman, 1996, p. 41) (Torres, E., 1984, p.152)

- **Textura**

La textura del suelo se define como el porcentaje en peso del suelo mineral que queda comprendido entre varias fracciones de tamaño de partículas, es decir, es una medida aproximada de la distribución y composición granulométrica de los agregados inorgánicos en diferentes formas como arena, limo y arcilla, pero varían en los valores de los límites establecidos para definir a cada clase. La textura influye en la fertilidad del suelo, capacidad de retención de agua, aire, contenido de materia orgánica. (Espinoza, 2007, p. 129)

- **Porosidad**

La porosidad en el suelo representa el porcentaje total de huecos que hay entre el material sólido de un suelo, es decir, es el volumen del suelo no ocupado por sólidos. Es un parámetro indispensable ya que de este depende el comportamiento del suelo frente a la fase líquida y gaseosa, por ende, es fundamental para la actividad biológica contenida y disponibilidad de agua para las plantas. (Espinoza, 2007, p. 143) (Torres, E., 1984, p. 144)

- **Color**

El color del suelo es el resultado del proceso de edafogénesis y está determinado por la naturaleza del material fino, así como también por la cantidad y estado del hierro y/o de la materia orgánica. Además, puede ser un útil indicador para conocer el origen, propiedades y formación del suelo. (Torres, E., 1984, p. 162) (Hudson, N., 1982, p. 122) (De la Rosa, D., 2008, p. 205)

- **Densidad**

La densidad de un suelo es igual al peso de suelo seco con respecto al volumen de suelo, siendo una medida de la densidad de los componentes individuales. (Hudson, N., 1982, p. 145)

Propiedades químicas

- **Materia orgánica**

La materia orgánica está constituida por la acumulación de restos y productos de descomposición de plantas y animales. La mayor cantidad de materia orgánica del suelo es derivada de las plantas, tanto de sus partes aéreas como de las raíces. La materia orgánica funciona como granulador de las partículas minerales siendo responsable en gran parte del desmenuzamiento de los suelos productivos, es la mayor fuente de fósforo y azufre, ayuda en la retención de agua y es la principal fuente de energía para los microorganismos del suelo. (Fitz Patrick, 2009, p. 151) (Buckman, 1996, pp. 11-12).

- **Potencial hidrógeno**

El potencial de hidrógeno (pH) del suelo es una propiedad que está relacionada con el grado de saturación de bases y puede influir en la absorción nutritiva y crecimiento de las plantas, asimilación de los nutrientes y la presencia de iones tóxicos. (Romero Rojas, 2009, p. 186).

- **Fertilidad**

La fertilidad es la capacidad de producción del suelo, con respecto a la cantidad de nutrientes (macro y micronutrientes), microorganismos, entre otros factores. (Espinoza, 2007, p. 170)

Se pueden distinguir algunos nutrientes relevantes:

- **Nitrógeno:** el nitrógeno es un elemento esencial en el crecimiento de las plantas, interviene en la fotosíntesis, es necesario en la síntesis de clorofila, y conforma los sistemas de energía de la planta. (Espinoza, 2007, p. 171)
- **Fósforo:** el fósforo es un elemento indispensable en el metabolismo de azúcares, transferencia de información genética en las semillas, provee de resistencia a enfermedades, ayuda en la división y crecimiento celular. (Espinoza, 2007, p. 171)
- **Potasio:** el potasio es un elemento común e indispensable ya que ayuda en los procesos fisiológicos como la retención de agua, regulación osmótica, fotosíntesis y la acción enzimática. Un suministro adecuado de potasio es necesario para asegurar la resistencia de los cultivos a enfermedades y la sequía. (Altman Arie, 2006, p. 328)
- **Azufre:** el azufre es uno de los elementos que estimula el crecimiento y absorción de nitrógeno, junto con el boro da flexibilidad a los tejidos de la planta, con el magnesio ayuda en el llenado de granos y/o frutos. (Espinoza, 2007, p. 173)

Características biológicas

- **Microorganismos**

Los microorganismos contenidos en el suelo son abundantes, muchos de ellos son los principales causantes de enfermedades en plantas. (Rittmann Rice & MacCarty Perry, 2001, p. 1)

- **Bacterias:** las bacterias son organismos unicelulares, la mayoría ayudan en la nitrificación, oxidación del azufre y fijación del nitrógeno, actúa en las transformaciones de la materia orgánica, siendo las más importantes, simples y numerosas formas vivientes.
- **Nematodos:** los nematodos son gusanos microscópicos ahilados o en forma de anguila (cuerpo cilíndrico y delgado, sin segmentar y cubierto por una cutícula), se encuentran generalmente en gran cantidad en todos los suelos. Los nematodos se dividen en tres grupos: saprofitos (viven sobre la materia orgánica), predadores (atacan a otros nematodos, lombrices de tamaño pequeño y organismos parecidos), y parásitos (atacando las raíces de plantas superiores para posteriormente pasar a su ciclo evolutivo, enquistados en sus tejidos).
- **Actinomicetos:** los actinomicetos son microorganismos unicelulares filamentosos, profusamente ramificados, sus hebras micelianas son pequeñas de entre 2-5µm y producen un aroma a tierra fresca mojada. Se desarrollan mejor en la humedad y en un suelo con buena aireación. Son de gran importancia ya que ayudan en la disolución de la materia orgánica y la liberación de nutrientes en el suelo, reducen la lignina a las formas más sencillas, así como otros compuestos más resistentes, simplifican el humus especialmente el nitrógeno. (Buckman, 1996, pp. 122, 128)

1.2.3 Usos del suelo

El uso de suelo está relacionado con las actividades que el hombre va a desarrollar. Los principales usos de suelo son: (Stabler, 2001, p. 68)

- **Forestal**

El uso del suelo forestal hace referencia en fomentar y gestionar las prácticas de las plantaciones principalmente de especies leñosas y pastos con el fin de mejorar y recuperar el recurso natural renovable suelo. (Stabler, 2001, p. 69)

- **Agrícola**

El uso del suelo en la parte agrícola es fundamental debido que es utilizado como un medio para mantener y sustentar a las plantas y a los organismos que viven con ella, y también para la producción de alimentos para la población. Además, el suelo es el medio donde las plantas pueden obtener agua, aire y los nutrientes necesarios para su desarrollo. Sin embargo, para el control de problemas fitosanitarios se utilizan productos químicos compuestos principalmente por azufre, cal, arsénico y fósforo. (Stabler, 2001, pp. 69,70) (Meco Ramón, et al, 2012, p. 77)

1.2.4 Agroquímicos

Los agroquímicos son sustancias químicas cuyo objetivo es controlar, prevenir, o destruir cualquier plaga y aquel vector transmisor de enfermedades. (Altman,A., 2006, pp. 731)

1.2.4.1 Fertilizantes

Los fertilizantes permiten restituir a los suelos los elementos nutrientes que las plantas extraen, o que los suelos pierden por lavado, y erosión, poniendo a disposición de los cultivos los nutrientes que necesitan para su desarrollo. El agricultor con la utilización de los fertilizantes mantiene los nutrientes necesarios. (García Pilar, et al, 2010, p. 14)

Los fertilizantes se clasifican en:

Orgánicos: los fertilizantes orgánicos (que son el resultado de la degradación y mineralización de residuos orgánicos de origen animal, vegetal e industrial.); aportan nutrientes, mejoran las propiedades físico-químicas del suelo, y la actividad biológica. A diferencia de los inorgánicos que son los creados por el hombre.

Minerales: los fertilizantes minerales aportan la mayor cantidad de nutrientes que la planta necesita. (García Pilar, et al, 2010, p. 16)

1.2.4.2 Plaguicidas

Los plaguicidas o productos para la protección de cultivos son sustancias químicas diseñadas para el control de plagas, malezas y enfermedades ayudando a la producción de cosechas sanas y abundantes. (Hidalgo Carlos, 2014, p. 1)

Los plaguicidas agrícolas son desarrollados para controlar las plagas que perjudican los cultivos, para lo cual se requiere que entren en contacto con dichas plagas, se clasifican de acuerdo a la plaga:

- Insectos: insecticidas.
- Hongos: fungicidas.
- Aves: avicidas.
- Ácaros: acaricidas.
- Nematodos: nematicidas.
- Lombrices: vermícidias.
- Plantas (malezas): herbicidas. (Yáñez Guido, 2008, p. 30)

- **Insecticidas**

Los insecticidas son aquellos que repelen y combaten a los insectos, como, por ejemplo: pulguilla (*Epitrix párvula*), trips (*Thysanoptera*), mosca minadora (*Liriomyza huidobrensis*), gusano blanco de la papa (*Anoxia villosa*). Por su modo de acción pueden ser: sistémicos, de contacto, translaminares, asfixiantes, polivalentes y biológicos, y por su acción selectiva pueden ser: ovicidas, larvicidas, adulticidas, repelentes y atrayentes. (Yáñez Guido, 2008, p. 30).

- **Fungicidas**

Los fungicidas son aquellos que previenen y combaten a los hongos causantes de enfermedades, como, por ejemplo: lancha o tizón tardío, tizón temprano, oídium, rhizoctonia, sigatoka negra, sigatoka roja. Por su modo de acción se puede encontrar fungicidas de contacto, sistémicos, translaminares y biológicos. (Yáñez Guido, 2008, p. 30)

- **Acaricidas**

Los acaricidas son aquellos que se utilizan para controlar los ácaros en los sembríos. (Yáñez Guido, 2008, p. 30)

- **Nematicidas**

Los nematicidas son aquellos que se utilizan para el control de nematodos que perforan la pared de la célula, por ejemplo: el anillo rojo de la palma africana, morilla del cacao. (Yáñez Guido, 2008, p. 31).

- **Herbicidas**

Los herbicidas son plaguicidas con el fin de prevenir, mitigar y combatir malezas (plantas no deseadas). Estos son utilizados de acuerdo a la época de siembra como: pre-siembra, pre-siembra incorporado, pre-emergente, emergente, post-emergente. (Yáñez Guido, 2008, p. 31)

1.2.5 Fuentes de contaminación

Debido al uso frecuente de los diferentes tipos de agroquímicos se produce contaminación ambiental por varios factores:

- **Derrames:** los derrames de los agroquímicos ocurren cuando se realizan las mezclas de los concentrados o el llenado de las bombas u otros equipos para la aplicación de los mismos.
- **Incorrecta disposición:** los residuos de los agroquímicos generalmente son enterrados, incinerados en el lugar donde han sido utilizados generando lixiviación y gases.
- **Aplicaciones:** las aplicaciones de los distintos agroquímicos pueden generar contaminación ya sea del aire, agua, suelo y de las plantas.
- **Accidentes y derrames:** los accidentes y derrames son ocasionales o sistemáticos los cuales son causados durante la manipulación de los agroquímicos.
- **Desplazamiento:** los distintos agroquímicos se desplazan a través del aire o de los ríos después de su aplicación (fumigación).
- **Descarga del agua de lavado:** la descarga del agua de lavado hace referencia al lavado de los envases, equipos utilizados ya sea en ríos, acequias, ojos de agua, etc.
- **Evaporación:** la evaporación de los agroquímicos se da por el almacenamiento de cada uno de ellos sin observar o conocer las normas de control. (Buckman, 1996, p. 226)

1.2.5.1 Contaminación del aire

- **Movimiento de los agroquímicos**

Los agroquímicos en forma de vapores, polvo o gotas finas de aspersión pueden fácilmente desplazarse desde el lugar de aplicación a otros sitios. Al utilizar bombas a alta presión, aumenta considerablemente la probabilidad de la contaminación aérea y el arrastre indeseado del

agroquímico fuera del área de aplicación, dependiendo de la forma en la que se aplique, así como también de las condiciones del viento. (Yáñez Guido, 2008, p. 69)

- **Volatilización de los agroquímicos**

La volatilización de los agroquímicos se incrementa en ambientes cálidos, generalmente cuando el viento es fuerte, la humedad relativa es baja y el tamaño de la gota es muy fina. (Yáñez Guido, 2008, p. 69)

1.2.5.2 Contaminación del agua

- **Contaminación del agua superficial**

La contaminación del agua superficial por los agroquímicos generalmente es por la descarga de residuos de agroquímicos, lavado de los equipos de aplicación (bombas), por medio de las escorrentías después de las lluvias, por la erosión o arrastre.

Los agroquímicos pueden llegar fácilmente a las aguas superficiales cuando se aplican a áreas cercanas a lagos, ríos y campos que tienen drenajes naturales, el riesgo aumenta cuando estos son aplicados en época de lluvia debido que el suelo está descubierto o con una pequeña cantidad de cobertura vegetal. (Yáñez Guido, 2008, p. 70)

- **Contaminación de acuíferos**

La contaminación de los acuíferos se da debido a que el agua subterránea fluye a través de los poros y grietas de las rocas, y también por el espacio que existe entre los granos de arena, minerales y otras partículas del suelo. El agua infiltrada por el suelo se mueve a una zona no-saturada donde los poros contienen agua y aire. En algunos casos, la contaminación de los acuíferos por agroquímicos está dada por derrames y escapes del contenido de los recipientes, siendo la causa común la aplicación de los agroquímicos considerando las características físico-químicas del mismo. (Yáñez Guido, 2008, p. 71) (Buckman, 1996, p. 256)

1.2.6 Biorremediación de suelos contaminados

La biorremediación es conocida como la biotecnología del medio ambiente ya que aplica los principios de la microbiología en la solución a problemas ambientales, en las que incluye técnicas para el tratamiento de suelos:

1.2.7 Bioaumentación

La bioaumentación es uno de los métodos de biorremediación más utilizado, abarca la inoculación de microorganismos individuales o consorcios que albergan genes de degradación para ser transferidos a la flora. La remediación biológica del suelo es una de las soluciones medioambientales sostenibles para el tratamiento de suelos contaminados. (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 130)

1.2.7.1 Parámetros de control de microorganismos inoculados

Los parámetros más importantes que se deben considerar en esta técnica de biorremediación son:

- **Temperatura**

La temperatura óptima para la biorremediación está comprendida entre 5 °C y 30 °C, según Diels & Lookman (2007) la biorremediación durante la lluvia es ineficaz. (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 131)

- **Potencial hidrógeno**

El pH es uno de los parámetros que influye en la eficacia y funcionamiento de la bioaumentación, el pH óptimo fluctúa entre 5 a 8. (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 131)

1.2.7.2 Técnicas de inoculación

Existen diferentes métodos para la bioaumentación del suelo, así como algunos factores clave involucrados, como se muestra en la Tabla 1-1.

Tabla 1-1 Métodos diferentes para la bioaumentación del suelo y factores a considerar.

Métodos	Ventajas	Inconvenientes
Cebado y activación del suelo	<ul style="list-style-type: none"> - Consorcio de microorganismos autóctonos potencialmente más resistente al estrés que aislar solo uno y poder asegurar varias funciones de la remediación. - Mantenimiento de los consorcios preparados dentro del suelo nativo, potencialmente mejorando su supervivencia en el suelo objetivo. - Eficacia microbiana del suelo activado hacia contaminantes comprobados antes del bioaumento del suelo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composición desconocida del inóculo microbiano. - Ninguna certeza de la eficacia microbiana hacia los contaminantes de destino con el método de cebado.
Asociación de planta-microorganismo (rizoremediación)	<ul style="list-style-type: none"> - La entrega regular de exudados vegetales utilizados como sustratos para los microorganismos inoculados. - El área de rizosféricos que sirve como nicho ecológico específico para rizobacterias 	<ul style="list-style-type: none"> - Formación más compleja del inóculo (recubrimiento de semillas microbianas).

	(mejora para la supervivencia microbiana).	
Medio de cultivo para la producción del inóculo	<ul style="list-style-type: none"> - El único método para la extracción de metales. - Concentraciones altas de células y reproducibles utilizando un medio de cultivo artificial. - Índice de supervivencia más alto del suelo inoculado con microorganismos previamente cultivados en un medio con composición cercana del suelo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Estrés microbiano después de la inoculación en el suelo. - Concentración baja de la célula usando el medio de cultivo con la composición cercana al suelo.
Formulación del inóculo	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor supervivencia y período de actividad prolongado con células inmovilizadas durante el almacenamiento y después de la inoculación. - Efecto positivo de los nutrientes formulados con el inóculo (posibilidad de colocación de nutrientes e inóculos utilizando la técnica de inmovilización). 	- Distribución inadecuada de microorganismos en el suelo, ni la supervivencia garantizada por el cultivo celular libre de inóculos.
Tamaño y reinoculación del inóculo	- Varias inoculaciones sucesivas con una célula de más baja concentración mejor que sólo una con alta concentración.	- El costo de bioaumentación se relaciona estrechamente con el tamaño del inóculo y la frecuencia de reinoculación.

Fuente: (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, pp. 146-147)

1.2.8 Bioestimulación

La bioestimulación es una técnica que se basa en el aumento de la actividad de las bacterias presentes mediante el ajuste de los factores que pueden limitar su actividad, principalmente el oxígeno y los nutrientes. El objetivo principal de la bioestimulación es proporcionar a las comunidades bacterianas un entorno favorable, en el que puedan degradar eficazmente los contaminantes. (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 193)

1.2.8.1 Tipos de bioestimulación

- **Bioestimulación por suministro de oxígeno**

El oxígeno se suministra al suelo con el fin de estimular la actividad microbiana y mejorar las tasas de biodegradación aeróbica en el caso que el oxígeno se considere como un factor limitante. La incorporación de oxígeno puede incluir la labranza, aireación forzada y mediante métodos químicos.

- **Labranza:** la labranza es un método físico que se utiliza para acelerar la biodegradación durante la agricultura terrestre, pero sólo es eficaz para los suelos superiores.
- **Técnica de aireación forzada:** la técnica de aireación forzada, incluida la inyección de agua aireada, aire u oxígeno puro, se utilizan comúnmente para mejorar la biodegradación en suelos y aguas subterráneas contaminadas con hidrocarburos de petróleo.
- **Métodos químicos:** Los métodos químicos incluyen la adición de fuentes alternativas de oxígeno, como los compuestos liberadores de oxígeno ORC®, o agentes como permanganato potásico (KMnO₄), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y ozono (O₃). (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 201)

- **Bioestimulación por suministro de nutrientes**

Los nutrientes adicionales principalmente nitrógeno y fósforo introducidos en el suelo contaminado en forma de fertilizantes orgánicos y/o inorgánicos pueden mejorar la biodegradación de los contaminantes. Sin embargo, como el ambiente del suelo es muy complejo y heterogéneo, la efectividad de las fuentes de nutrientes tiende a ser afectada por las propiedades fisicoquímicas del suelo. (Malina, 2007, p. 29)

La incorporación de nitrógeno (en particular, el uso de fertilizantes inorgánicos) no puede tener efecto cuando se aplica a altas concentraciones, incluso efectos nocivos. (Bento, et al, 2005, p.78). Los abonos de nitrógeno inorgánico compuestos por sales de nitratos y amonios aumentan la concentración de sal del agua del poro del suelo, disminuyendo el potencial osmótico del suelo e inhibiendo así la actividad microbiana. Además, los fertilizantes deben ser dosificados con precisión teniendo en cuenta las condiciones ambientales locales. (Walworth, et al, 2007, p. 5)

La combinación de bioaumentación y bioestimulación podría ser una estrategia para acelerar el proceso de biorremediación. Tanto los microorganismos presentes como exógenos podrían beneficiarse de la bioestimulación por la adición de fuentes de energía o aceptadores de electrones. (Sing A., Parmar N., Kuhad R., 2011, p. 16).

CAPÍTULO II

2 MARCO METODOLÓGICO

2.1 Diseño Experimental

2.1.1 Tipo y Diseño de Investigación

La investigación sobre caracterización morfo-fisiológica de grupos predominantes presentes en la microbiota procedente de un suelo agrícola procedente del sector San Vicente de Tiazo en la Parroquia San Luis, contaminado con agroquímicos para la recuperación del mismo mediante la aplicación de bioestimulación será una investigación experimental ya que realizamos la siembra e inoculación de los diferentes microorganismos encontrados en los dos tipos de suelos con el fin de realizar su descripción morfo-fisiológica y comparar sus características para así poder aplicar la bioestimulación de acuerdo a las características de los suelos y de la microbiota presente en los mismos.

2.1.2 Unidad de análisis

La unidad de análisis corresponde a la muestra que se tomó de cada suelo y a la microbiota que se obtuvo a través de la siembra de los mismos.

2.1.3 Población de estudio

La población de estudio en la siguiente investigación es el suelo sin previo tratamiento tomado de unos cultivos ubicados en la parroquia San Luis del Cantón Riobamba, y la microbiota que se obtuvo a partir de la siembra de los dos tipos de muestras.

2.1.4 *Tamaño de la muestra*

Las muestras recolectadas fueron el Kg de suelo/ sitio, 1 Kg de suelo correspondiente a una muestra compuesta representativa del área total en estudio (1380 m²) de 1 kg de cada suelo contaminado con agroquímicos, con lo que se realizaron los diferentes análisis de laboratorio.

2.1.5 *Selección de la muestra*

Para la selección de la muestra se realizó un muestreo, utilizando el método combinado, para lo cual se tomaron 15 sub muestras de suelo de la superficie destinada al cultivo de frutilla (*Fragaria* spp.) a campo abierto y otras 15 sub muestras del suelo fueron tomadas del área destinada al cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) bajo invernadero.

2.2 Metodología

2.2.1 *Localización de la experimentación*

La localización de la experimentación fue llevada a cabo en un terreno de la Parroquia San Luis del cantón Riobamba, de donde se obtuvieron las muestras de suelo ya que han sido terrenos utilizados para la agricultura. Los ensayos realizados para los estudios de la caracterización morfo-fisiológica de la microbiota procedente del suelo se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos de Naturales de la ESPOCH, en estas instalaciones también se realizó el ensayo de bioestimulación del suelo a nivel de laboratorio.

2.2.2 *Lugar de muestreo*

El muestreo del suelo se realizó en la parroquia San Luis coordenadas 1° 43' 0.26" S y 78° 38' 29.84" O, sector San Vicente de Tiazo, Provincia de Chimborazo.

2.2.3 Toma de muestras

La toma de muestra se basó en una técnica de un muestreo sistemático con patrón en zigzag, dividiendo el terreno en los puntos deseados.

Materiales

- Guantes
- Mascarilla
- Barreno
- Cooler
- Hielo
- Pala
- Fundas ziploc
- Marcador
- Recipiente grande

Procedimiento

- De acuerdo a las recomendaciones del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), se realizó un muestreo sistemático con patrón en zigzag, para obtener una muestra compuesta de cada una de las áreas, una con cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) y la otra con el cultivo de frutilla (*Fragaria* spp.), 15 submuestras de suelo fueron tomadas de cada parcela de muestreo a partir de las cuales se obtuvo 1 Kg de suelo para los respectivos análisis en el Laboratorio (Sosa, D. 2012).
- Utilizando el barreno se iban recogiendo las submuestras establecidas por cada parcela, y colocándolas en los recipientes grandes para posteriormente mezclarlas y homogenizarlas.
- Después de mezclar y homogenizar las submuestras se tomó la muestra deseada colocándolas en las fundas ziploc 1 kilogramo por cada funda con el fin de tomar el tamaño de muestra deseado.
- Se identificaron las muestras con información como el tipo de cultivo, hora y fecha del muestreo.
- Se almacenaron las muestras en un cooler a 4 °C, y fueron trasladadas al Laboratorio de ciencias biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

2.2.4 *Análisis iniciales de las muestras*

-Determinación del pH

Materiales

- pH metro
- 2 frascos de vidrio esterilizables de 100 mL
- Agua destilada
- Balanza
- Cucharas plásticas

Procedimiento

- Tomar 25 gramos de cada muestra de suelo y colocar en los frascos.
- Añadir 50 mL de agua destilada, mezclar y homogenizar.
- Dejar en reposo durante 30 minutos lo recomendable es 1 hora.
- Calibrar el pH metro y tomar el pH.
- Transcurrido este tiempo, utilizando un pHmetro calibrado (McKean, 1993), se tomó 1 lectura de pH por cada muestra. Los resultados fueron:

→ Cultivo de tomate pH=7,59

→ Cultivo de frutilla pH=6,85

-Cuantificación de nematodos

Materiales

- Botellas de 2 L
- Embudos de vidrio
- Pañuelos klenex naturales
- Cajas Petri de vidrio
- Microscopio
- Balanza
- Cucharas plásticas
- Malla de acero inoxidable
- Agua destilada
- Tubos recolectores

Procedimiento

- Se pesó 50 gramos de cada muestra recolectada y se colocaron en los pañuelos klenex.
- Anteriormente se colocaron los embudos de vidrios en cada botella, en el interior de los embudos de vidrios se pusieron las mallas de acero inoxidable que servirán como soporte.
- Sobre las mallas se colocaron los pañuelos klenex con cada muestra respectivamente y se dispuso agua destilada hasta cubrir el pañuelo totalmente.
- Se deja reposar por 72 horas.
- Después de pasar las 72 horas se vertió el contenido del tubo recolector en las cajas Petri de vidrio y se visualizaron en el microscopio.
- Obteniendo un resultado de menos de 10 nematodos por cada campo.

-Determinación de las UFC y cuantificación de colonias

Materiales

- Tubos de 10 mL
- Balanza
- Tapas roscas para tubos
- Balanza

- Gradilla
- Autoclave
- Incubadora
- Cajas Petri desechables
- Micropipetas de 100 y 1000 μL
- Tips de 100 y 1000 μL
- Frascos de vidrio de 100 mL

Reactivos

- Agar PDA (Agar de papa y dextrosa)
- Agar Nutriente
- Agua destilada

Procedimiento

- Primero se realizó la preparación de blancos de 9 mL de agua destilada en 26 tubos, y se los esteriliza por 20 minutos en la autoclave a 121 °C que es el tiempo de esterilización requerido.
- Posteriormente la preparación de las soluciones madres con 90 mL de agua destilada previamente esterilizados, y se añade 10 gramos de cada muestra respectivamente.
- Se realizaron diluciones de 10^{-1} hasta la 10^{-7} , tomando 1000 μL inicialmente de la solución madre para la primera dilución 10^{-1} y se va tomando en secuencia hasta llegar a la dilución 10^{-7} .
- Se prepararon los medios de cultivo vertiendo 25 mL de cada medio en las cajas Petri previamente esterilizadas y rotuladas.
- De las diluciones que se obtuvieron se colocaron alícuotas de 100 μL de cada dilución en las cajas Petri con Agar PDA Difco™ y Agar Nutriente Difco™, ya preparadas.
- Se realizó la expansión de los inóculos con una pipeta Pasteur.
- Ya fijado el inóculo, se lleva las cajas de PDA y AN a la incubadora con una temperatura promedio de 36,5 °C.
- Se realizó un conteo de las colonias a las 24 horas y otro conteo a las 72 horas debido a la observación del crecimiento de las colonias.
- Una vez cuantificadas las colonias se realizaron los cálculos para obtener valores de las UFC/g de suelo. Para lo cual se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{UFC}{g \text{ de suelo}} = \frac{N * FD * Vt}{Vi * S}$$

Ecuación 1

Donde:

- N= Número de colonias contadas
- FD= Factor de dilución en la que se contó
- Vt= Volumen de la dilución 1/10, en mililitros
- Vi= Volumen inoculado en mililitros
- S= Cantidad de suelo para preparar la dilución 1/10
- Nota: La ecuación establecida se utiliza para datos no mayores a 300.

2.2.5 Purificación de microorganismos

La purificación consiste en aislar en el medio de cultivo respectivo los microorganismos más representativos con el fin de lograr su crecimiento.

Materiales

- Cajas Petri
- Balanza
- Palillos esterilizados
- Marcador
- Cinta
- Incubadora

Reactivos

- Agar PDA (Agar de papa y dextrosa) Difco™
- Agar Nutriente Difco™
- Agua destilada

Procedimiento

- Preparación de los medios de cultivo, se prepararon cantidades determinadas de agar nutriente y agar PDA respectivamente para 132 cajas Petri.
- Los medios se esterilizaron por 20 minutos en la autoclave.
- Se dejaron enfriar y se vertieron en las cajas ya rotuladas, que fueron previamente esterilizadas en el UV por 10 minutos.
- Una vez listas las cajas Petri con los respectivos medios se realizó el aislamiento de los microorganismos más representativos que se contaron en las cajas de las diluciones anteriores.
- Con palillos esterilizados se fueron aislando y sembrando uno a uno los diferentes microorganismos teniendo un total de 132, entre estos bacterias, hongos y actinomicetos.
- Se incubaron a 32,6 °C y se observaron a las 96 horas en el caso del agar nutriente debido al tiempo de crecimiento de los microorganismos en especial las bacterias y a las 120 horas en el caso de agar PDA ya que el crecimiento de los hongos y actinomicetos es más lento.
- Se observaron microorganismos totalmente puros y otros contaminados, los cuales fueron inoculados nuevamente siguiendo el mismo procedimiento.

2.2.6 Codificación y almacenamiento de cultivos

Para el manejo adecuado y fácil de los microorganismos se realizó la codificación con un rango de números determinados en el laboratorio, estos fueron del 2951 hasta el 3082.

Materiales

- Marcador
- Crioviales esterilizables
- Palillos esterilizados

Reactivos

- Glicerol al 20%

Procedimiento

- Se añadió el glicerol al 20% a los Crioviales de 2 mL y fueron esterilizados por 20 minutos en la autoclave.
- Una vez esterilizados se dejaron enfriar para poder almacenar los microorganismos.
- Los microorganismos totalmente purificados fueron tomados con palillos esterilizados y se inocularon en los Crioviales, previamente rotulados con la codificación determinada y la fecha de almacenamiento.
- Los Crioviales fueron almacenados en el refrigerador a -20 °C.

2.2.7 Caracterización morfo-fisiológica de microorganismos, observación en el microscopio

Una vez realizado el almacenamiento de los microorganismos se fueron detallando las características de los mismos y se observaron en el microscopio.

Se utilizaron diferentes procedimientos para observar en el microscopio los diferentes grupos (bacterias, hongos y actinomicetos).

-Bacterias; Tinción de Gram

Materiales

- Portaobjetos
- Palillos esterilizados
- Microscopio
- Mechero
- Guantes
- Mascarilla

Reactivos

- Violeta de cristal
- Lugol
- Safranina
- Alcohol-cetona
- Agua destilada

Procedimiento

- Se añade una gota de agua destilada en el portaobjeto previamente rotulado con el código del microorganismo y con un palillo esterilizado se toma una pequeña cantidad de la bacteria.
- Se va extendiendo uniformemente la muestra con el palillo y frotándola por el mechero de alcohol para que quede totalmente seca.
- Una vez seca la muestra realizar la tinción, cogiendo con una pipeta violeta de cristal y verter sobre la muestra cubriéndola totalmente, se debe esperar un minuto y enjuagar con agua destilada.
- Después de esto con otra pipeta coger Lugol y verter sobre la muestra cubriéndola totalmente, esperar un minuto y enjuagar con agua destilada.
- Así mismo con otra pipeta coger alcohol-cetona y verter sobre la muestra cubriéndola totalmente, esperar 30 segundos y enjuagar con agua destilada.
- Por último, con otra pipeta safranina y verter sobre la muestra cubriéndola totalmente, esperar 5 minutos y enjuagar con agua destilada.
- Una vez realizado este procedimiento se deja secar el portaobjetos al ambiente y se observa en el microscopio.
- Agrupando las bacterias en Gram positivas y Gram negativas y determinando si son bacilos, cocos, etc.

-Actinomicetos y Hongos

Para la observación en el microscopio de estos dos grupos de microorganismos se realiza el mismo procedimiento.

Materiales

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Palillos esterilizados
- Guantes

Reactivos

- Agua destilada

Procedimiento

- Para el caso de hongos y actinomicetos, debemos añadir una gota de agua destilada en el portaobjeto previamente rotulado con el código de la muestra.
- Con el palillo esterilizado se toma una pequeña cantidad de la muestra y se mezcla con el agua destilada.
- Una vez realizado esto se coloca el cubreobjetos cuidadosamente sobre la muestra evitando que se hagan burbujas que posteriormente dificultaran observar la muestra en el microscopio.

Tabla 2-2 Resultados total de microorganismos purificados

Caracterización Morfo-fisiológica	
Grupos	Total
Bacterias Gram positivas	10
Bacterias Gram negativas	67
Actinomicetos	25
Hongos	30
Resultado total	132

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

En la tabla nos presenta un resultado total de 132 microorganismos los cuales fueron observados mediante el microscopio, también caracterizados y se los clasificó en los grupos que se detallan en la Tabla 2-1.

2.2.8 Pre ensayo para determinar la concentración de Urea y Melaza en el que se aplicaran en el ensayo final

Materiales

- Balanza
- Tarrinas
- Frascos de vidrio de 1 litro
- Botellas plásticas
- Cucharas
- Tubos de 10 mL
- Tapas roscas para tubos
- Incubadora
- Micropipetas de 100 y 1000 μL
- Tips de 100 y 1000 μL
- Frascos de vidrio de 100 mL
- Cajas Petri desechables
- Erlenmeyer de 2 litros

Reactivos

- Urea
- Melaza
- Agua destilada

Procedimiento

- Se realizó un pre ensayo en el que se determinó la concentración de urea y melaza que requieren los dos tipos de suelos para ser bioestimulados.

- Se preparó 1 litro de urea al 10% lo que implica 200 gramos de urea en 800 mL de agua destilada.
- El mismo proceso para el caso de la melaza al 10% se pesó 200 gramos de la misma diluidos en 800 mL de agua destilada.
- Se realizaron tres tipos de tratamientos que se detallan a continuación:

Tabla 3-2 Tratamientos para el Pre ensayo de Bioestimulación.

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIÓN	PORCENTAJE	SOLUCIONES STOCK
SUELO FRUTILLA			
BLANCO	-	-	UREA 10%-MELAZA 10%
T1	250 mL Urea	50% Urea	
	250 mL Melaza	50% Melaza	
T2	200 mL Urea	40% Urea	
	300 mL Melaza	60% Melaza	
T3	300 mL Urea	60% Urea	
	200 mL Melaza	40% Melaza	
SUELO TOMATE			
BLANCO	-	-	UREA 10%-MELAZA 10%
T1	250 mL Urea	50% Urea	
	250 mL Melaza	50% Melaza	
T2	200 mL Urea	40% Urea	
	300 mL Melaza	60% Melaza	
T3	300 mL Urea	60% Urea	
	200 mL Melaza	40% Melaza	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

- Una vez establecidos los tratamientos se pesó 200 gramos de cada suelo, en 8 tarrinas previamente rotuladas, y se aplicaron 15 mL de las concentraciones de urea y melaza ya preparadas, esto se determinó de acuerdo a la saturación del suelo ya que se debe mantener un nivel de humedad no mayor al 60%, observando una humedad adecuada mediante el tacto. La humedad es considerada la mayor limitante en el crecimiento microbiano, tanto las bacterias como los hongos que son los grupos predominantes se ven favorecidos en su crecimiento bajo condiciones de humedad adecuada, tendiendo a alta (Dannemiller *et al.*, 2017).
- Se esperó un periodo de 120 horas.

- Una vez culminado el periodo se procedió a realizar los blancos de dilución de cada tratamiento aplicado.
- Después de esto se realizó la siembra de las diluciones 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} en Agar PDA y Agar nutriente de cada tratamiento especificado en la Tabla 2-2; tomando con la pipeta 10 μ L de cada dilución e inoculándolos en las cajas previamente rotuladas.
- Se incubaron a 36,5 °C, y se realizó un conteo a las 48 horas y el otro a las 72 horas, mediante los datos obtenidos se determinó el tratamiento de bioestimulación adecuado para cada tipo de suelo y así aplicarlo en el proceso final.

2.2.9 Proceso de producción de microorganismos que se inocularan en el ensayo final

El proceso de producción de microorganismos nativos para ser inoculados en el ensayo final lleva varios pasos que detallaremos a continuación:

-Preparación de Caldos

Caldo LB (Luria Bertani) para Pull Bacteriano

Materiales

- Balanza
- Erlenmeyer de 2 L
- Frasco de vidrio de 1 L
- Micropipeta de 100 μ L
- Tips de 100 μ L
- Algodón
- Bomba de aireación
- Mangueras pequeñas
- Cámara de Petroff Hausser
- pH metro
- Portaobjetos
- Cubre objetos
- Pipeta Pasteur

Reactivos

- Triptona
- Extracto de levadura
- NaCl (Cloruro de sodio)
- Violeta de cristal
- Safranina
- Lugol
- Alcohol-cetona
- Agua destilada

Procedimiento

- Se pesó 10 gramos de Triptona, más 5 gramos de extracto de levadura y 5 gramos de NaCl (Cloruro de Sodio) se colocaron en una botella y se agregó 1 litro de agua destilada disolviendo los reactivos.
- Se filtró al vacío en dos ciclos en bomba de extracción utilizando con uno y dos papeles filtro.
- Después de esto se debe medir y corregir el pH que debe estar en un rango de 7 +- 0,2 en este caso se midió el pH teniendo un resultado de 6,99 y no fue necesario realizar la corrección.
- Una vez realizado esto se esterilizó el caldo LB a 121 °C por 20 minutos.
- Esterilizado el caldo LB fue vertido en el Erlenmeyer de 2 L y se inocularon 50 µL únicamente de las bacterias Gram + (2964, 2974, 2992, 3009, 3042, 3047, 3051, 3052, 3061, 3075).
- Se instaló la bomba de aireación en el Erlenmeyer y se incubó a temperatura ambiente.
- Fue incubado por un periodo de 52 horas, revisando su crecimiento y observando su turbidez.
- Después de las 52 horas y observar la formación de masas bacterianas, se procedió a verter el pull bacteriano en una botella estéril y se le pone un tapón de algodón cubriendo con papel de aluminio para refrigerarlo a 4 °C, con el fin de almacenarlo hasta instalar el ensayo final.
- Se realizó también la Tinción de Gram del caldo bacteriano con el fin de determinar el crecimiento de los inóculos y que no exista contaminación, para esto se siguió el procedimiento ya detallado anteriormente en tres portaobjetos y se observó en el microscopio.

- También se observó en la Cámara de Petroff Hausser, para esto con una pipeta Pasteur se tomó unas gotas del caldo añadiéndolas en la cámara y se colocó el cubre objetos, y fue observado en el microscopio para determinar el número de células/mL presentes en el caldo.

-Se saca la media que es igual a 20

- FD= 1/10
- Volumen total de rejilla= 0,02 mm³
- Rejilla 1mm²/25 cuadros grandes/ (cada cuadro/16 cuadros pequeños)

Entonces:

$$20 \times 25 \times 50 \times 1000 = 25 \times 10^6 \text{ cel/mL}$$

$$25 \times 10^6 \text{ cel/mL} \times 10 \text{ (dilución 1/10)} = 2,5 \times 10^8 \text{ cel/mL}$$

25	22	19	17
22	25	23	21
26	18	19	17
21	19	18	21

Caldo para pull fúngico (Preparación de PDA Líquido)

Materiales

- Balanza
- Erlenmeyer de 2 L
- Frasco de vidrio de 1 L
- Micropipeta de 100 µL

- Tips de 100 μL
- Algodón
- Bomba de aireación
- Mangueras pequeñas
- Cámara de Neubauer
- pH metro
- Embudo de vástago de vidrio
- Portaobjetos
- Cubre objetos
- Pipeta Pasteur

Reactivos

- Agua destilada
- NaOH 0,1 N
- Dextrosa Saborada
- Safranina
- Azul de Lacto fenol
- Verde Malaquita
- Papa

Procedimiento

- Se pesó 660 gramos de papa y se hirvió con 3,5 litros de agua destilada hasta que la papa se disuelva totalmente.
- Después se filtró con tela en un embudo de vástago de vidrio obteniendo 550 mL de PDA casero.
- Una vez filtrado el PDA se corrigió el pH de 6,8 a 7 con 30 gotas de NaOH 0,1 N y se enriqueció con 0,9 gramos de dextrosa saborada.
- Después se esterilizo el medio a 121 °C por 20 minutos.
- Esterilizado el medio fue vertido en el Erlenmeyer de 2 L y se inocularon 50 μL de los hongos (2951, 2955, 2965, 2966, 2986, 2993, 2994, 2995, 2996, 2997, 2998, 2999, 3001, 3003, 3004, 3005, 3006, 3007, 3008, 3010, 3011, 3019, 3028, 3031, 3034, 3038, 3043, 3055, 3069, 3076).
- Se instaló la bomba de aireación en el Erlenmeyer y se incubo a temperatura ambiente.

- Fue incubado por un periodo de 66 horas, revisando su crecimiento para la obtención del pull fúngico.
- Después de las 66 horas se recogió el caldo fúngico en una botella de 1 Litro de vidrio estéril, se le pone un tapón de algodón cubriendo con papel de aluminio para refrigerarlo a 4 °C, con el fin de almacenarlo hasta instalar el ensayo final.
- También se realizó la tinción para observar el crecimiento de los hongos en el microscopio, se tomaron tres placas portaobjetos, la primera se tomó con una pipeta Pasteur una gota del caldo con una gota de safranina y se colocó el cubreobjetos, la segunda placa se tomó con una pipeta Pasteur una gota del caldo y una gota de azul de lacto fenol y se colocó el cubreobjetos y para la última placa se tomó con una pipeta Pasteur una gota del caldo y una gota de verde malaquita y se colocó el cubreobjetos; observando la presencia de las diferentes morfología de hongos.
- También se observó en la Cámara de Neubauer, para esto con una pipeta Pasteur se tomó unas gotas del caldo añadiéndolas en la cámara y se colocó el cubre objetos, y fue observado en el microscopio para determinar el número de células/mL presentes en el caldo. Teniendo:

-Se saca la media que es igual a 58

68	47	56	48
52	46	62	41
63	55	44	51
89	77	72	65

Entonces:

$$\text{Concentración} = \frac{\# \text{ de células} * 10000}{\# \text{ de cuadrados}}$$

$$\text{Concentración} = \frac{58 * 10000}{16} = 36250 \frac{\text{cel}}{\text{mL}}$$

Caldo para pull de actinomicetos (Preparación de PDA Líquido más Agar Avena)

Materiales

- Balanza
- Erlenmeyer de 2 L
- Frasco de vidrio de 1 L
- Micropipeta de 100 μ L
- Tips de 100 μ L
- Algodón
- Bomba de aireación
- Mangueras pequeñas
- Cámara de Neubauer
- pH metro
- Embudo de vástago de vidrio
- Portaobjetos
- Cubre objetos
- Pipeta Pasteur

Reactivos

- Agua destilada
- HCl 0,1 N
- Avena
- Papa

Procedimiento

- Se pesó 311 gramos de papa y se hirvió con 1 litro de agua destilada hasta que la papa se disuelva totalmente.
- Después se filtró con tela en un embudo de vástago de vidrio obteniendo 400 mL de PDA casero.
- Una vez filtrado el PDA se corrigió el pH de 6,84 a 7 con 40 gotas de HCl 0,1 N.

- También se preparó Agar Avena con 10 gramos de avena y se hirvió con 250 mL de agua destilada, se pasó por una coladera y se obtuvo 340 mL de medio.
- Se realizó la mezcla de los 400 mL de PDA casero más los 340 mL del medio de avena y se añadió 260 mL de agua destilada para obtener 1 Litro de pull de actinomicetos.
- Después se esterilizo el medio a 121 °C por 20 minutos.
- Esterilizado el medio fue vertido en el Erlenmeyer de 2 L y se inocularon 50 µL de los actinomicetos (2956, 2963, 2968, 2969, 2971, 2972, 2985, 2987, 3002, 3013, 3015, 3017, 3018, 3024, 3029, 3036, 3049, 3052, 3054, 3057, 3059, 3062, 3064, 3070, 3073, 3074).
- Se instaló la bomba de aireación en el Erlenmeyer y se incubo a temperatura ambiente.
- Fue incubado por un periodo de 72 horas, revisando su crecimiento para la obtención del pull de actinomicetos.
- Después de las 72 horas se recogió el caldo fúngico en una botella de 1 Litro de vidrio estéril, se le pone un tapón de algodón cubriendo con papel de aluminio para refrigerarlo a 4 °C, con el fin de almacenarlo hasta instalar el ensayo final.
- Se observó en el microscopio con el fin de determinar el crecimiento y las diferentes morfologías de los actinos, para esto se realizaron tres placas, donde se tomó con la pipeta Pasteur 1 gota del caldo y se colocó el cubreobjetos en las tres placas y se llevaron al microscopio para ser observadas.
- También se observó en la Cámara de Neubauer, para esto con una pipeta Pasteur se tomó unas gotas del caldo añadiéndolas en la cámara y se colocó el cubre objetos, y fue observado en el microscopio para determinar el número de células/mL presentes en el caldo.

-Se saca la media que es igual a 17

14	11	17	13
17	15	20	16
25	16	14	18
17	21	18	22

Entonces:

Para dilución 1:10 $D_i=0,1$

Para dilución 1:100 Di= 0,01

$$\text{Concentración} = \frac{\# \text{ de células} * 10000}{\# \text{ de cuadrados} * \text{Dilución}}$$
$$\text{Concentración} = \frac{17 * 10000}{16 * 0,1} = 106250 \frac{\text{cel}}{\text{mL}}$$

2.2.10 Instalación del Ensayo final

Materiales

- Tarrinas plásticas de medio litro
- Probetas
- Vasos de precipitación
- Guantes

Reactivos

- Pull Fúngico
- Pull Bacteriano
- Pull de Actinomicetos
- Urea-Melaza 40-60%
- Urea-Melaza 50-50%

Procedimiento

- Para el ensayo final en primer lugar se establecieron los 8 tipos de tratamientos que serán detallados a continuación.

Tabla 4-2 Tratamientos Determinados para el Ensayo Final

Tratamientos	Códigos	Descripción
T1	T1R1	Pull Bacterias
	T1R2	
	T1R3	
T2	T2R1	Pull Actinos
	T2R2	
	T2R3	
T3	T3R1	Pull Hongos
	T3R2	
	T3R3	
T4	T4R1	Pull Bacterias+Pull Hongos+ Pull Actinos
	T4R2	
	T4R3	
T5	T5R1	Pull Bacterias+ Pull Hongos
	T5R2	
	T5R3	
T6	T6R1	Pull Bacterias+ Pull Actinos
	T6R2	
	T6R3	
T7	T7R1	Pull Hongos+ Pull Actinos
	T7R2	
	T7R3	
T8	T8R1	Control
	T8R2	
	T8R3	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

- Una vez establecidos los tratamientos se prepararon 24 tarrinas con 200 gramos de suelo de frutilla y 24 tarrinas con 200 gramos de suelo de tomate que da un total de 48 unidades experimentales.
- Las tarrinas fueron rotuladas con los códigos determinados.
- En el caso de los nutrientes urea-melaza se aplicaron 5 mL en cada tarrina de la dosificación ya establecidos en el pre ensayo en este caso 50-50 % Urea Melaza para el suelo de cultivo de tomate y la dosificación de 40-60% para el suelo de cultivo de frutilla.

- Para la inoculación de los microorganismos producidos se aplicó 20 mL de cada Pull dependiendo de cada tratamiento ya detallados en la Tabla 3-2; en el caso de aplicar un solo pull como ejemplo el T1 se aplicó 20 mL en cada tarrina; en el caso de aplicar dos pull como ejemplo el T2 se aplicó 10 mL de cada pull en las tarrinas; y en el caso de aplicar los tres pull se aplicó 7 mL de cada pull en las tarrinas.
- Una vez aplicados los diferentes tratamientos se taparon las tarrinas con tapas perforadas con el fin de dar aireación y se determinó la humedad del 60 al 80%.
- Se observó durante una semana y durante este tiempo se presencié el apareamiento de hifas blancas en diferentes tratamientos.
- Una vez transcurrida la semana se llevó a cabo el conteo final de las UFC de cada tratamiento y establecer cuál sería el más ideal para ser aplicado en los suelos con el fin de su recuperación.

-Determinación final de las UFC y cuantificación de colonias

Materiales

- Tubos de 10 mL
- Balanza
- Tapas roscas para tubos
- Balanza
- Gradilla
- Autoclave
- Incubadora
- Cajas Petri desechables
- Micro pipetas de 100 y 1000 μ L
- Tips de 100 y 1000 μ L
- Frascos de vidrio de 100 mL

Reactivos

- Agar PDA (Agar de papa y dextrosa)
- Agar Nutriente
- Agua destilada

Procedimiento

- Primero se realizó la preparación de blancos de 9 mL de agua destilada en 160 tubos, y se los esteriliza por 20 minutos.
- Posteriormente la preparación de las 16 soluciones madres con 90 mL de agua destilada previamente esterilizados, y se añade 10,5 gramos (3,5 gramos de las tres repeticiones) de cada tratamiento respectivamente.
- Se realizaron diluciones de 10^{-1} hasta la 10^{-7} , tomando 1000 μL inicialmente de la solución madre para la primera dilución 10^{-1} y se va tomando en secuencia hasta llegar a la dilución 10^{-10} .
- Se prepararon los medios de cultivo vertiendo 25 mL de cada medio (Agar PDA y Agar Nutriente) en las cajas Petri previamente esterilizadas y rotuladas.
- De las diluciones que se obtuvieron se inocularon 100 μL de las diluciones 10^7 , 10^{-8} y 10^{-9} de cada tratamiento en las cajas Petri con Agar PDA y Agar Nutriente, ya preparadas.
- Se realizó la expansión de los inóculos con una pipeta Pasteur.
- Ya fijado el inóculo, se lleva las cajas a la incubadora con una temperatura ambiente.
- Se realizó un conteo de las colonias a las 48 horas, 120 horas, 168 horas; realizando el ultimo conteo a los 15 días.
- Una vez cuantificadas las colonias se realizaron los cálculos para obtener valores de las UFC/g de suelo.

2.2.11 Análisis estadístico

El análisis estadístico para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos y establecer el mejor, fue el método ANOVA aplicando la prueba F que se utiliza para datos distribuidos normalmente y que realiza las comparaciones entre los diferentes tratamientos, teniendo como variable respuesta las UFC/g de suelo. En este método se aplicó el método Tukey con el fin de crear los intervalos de confianza entre los diferentes tratamientos y determinar el mejor.

El coeficiente de varianza CV que no debe superar el 30%, es otro factor que indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos en estudio, y nos permite establecer el mejor tratamiento.

CAPÍTULO III

3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Lugar de Muestreo y localización de la experimentación

Las muestras de suelos y la microbiota procedente de los mismos se obtuvieron en las coordenadas 1° 43' 0.26" S y 78° 38' 29.84" O, sector San Vicente de Tiazo, parroquia San Luis. Provincia de Chimborazo.

La experimentación del trabajo se realizó en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ubicado en las coordenadas 17M 158247.00 m Este 9816895.00 m Sur y 2821 m.s.n.m.; en la Carretera Panamericana Sur Km 1 ½, Parroquia Lizarzaburu, de la Provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba.

3.2 Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado (Inicial).

Tabla 5-3 UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Inicial).

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F. Calculada	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,033E+14	10	2,033E+13	968,117**	.05 2.85	,000
Error	2,311E+11	11	2,100E+10		.01 4.54	
total	2,036E+14	21				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación 2

$$CV = \frac{\sqrt{2,100E + 10}}{2,140E + 006} \times 100$$

$$CV = 6,77\%$$

Tabla 6-3 Prueba de Tukey para la UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Inicial).

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T6	1,020E+007	a
T5	5,900E+006	b
T4 T11	2,550E+006 1,990E+006	c
T11 T10	1,990E+006 1,550E+006	d
T9 T8 T2 T1 T3 T7	2,950E+005 2,450E+005 2,350E+005 2,250E+005 1,950E+005 1,500E+005	e

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Tabla No 3-1), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo iniciales, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 968,117$, el coeficiente de variación (6.77%) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de Tukey al 0,05% (Tabla No 3-2) mostró que el T6 con una media de 1,020E+007, fue el tratamiento con mayor UFC/g de suelo, seguido del T5, y los tratamiento T4 y T11. Mientras que los tratamientos T10, T9, T8, T2, T1, T3 y T7 presenta poblaciones de microorganismos más bajas.

Tabla 7-3 UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Inicial).

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F. Calculada	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	3,316E+16	13	2,551E+15	5453,738**	.05 2.53	,000
Error	6,548E+12	14	4,677E+11		.01 3.80	
total	3,317E+16	27				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{Y}} \times 100$$

Ecuación 3

$$CV = 3.93\%$$

Tabla 8-3 Prueba de Tukey para la UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Inicial).

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T14	1,015E+008	A
T7	1,010E+008	
T13	9,950E+006	B
T6	9,900E+006	
T5	7,950E+006	
T12	4,965E+006	C
T11	2,850E+006	
T11	2,850E+006	D
T4	1,850E+006	
T2	9,400E+005	
T3	9,100E+005	
T10	6,100E+005	
T9	3,560E+005	
T1	1,795E+005	
T8	1,580E+005	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Tabla No 3-3), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo iniciales, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 5453,738$, el coeficiente de variación (**3.93%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-4) mostró que los tratamientos T14 y T7 tuvieron las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,015E+008, seguido de los tratamientos T13, T6 y T5, mientras que los demás tratamiento presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

3.3 Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado (Monitoreo-Verificación).

Tabla 9-3 UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Monitoreo-Verificación).

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	1,960E+14	10	1,960E+13	5102,334**	.05 2.85	,000
Error	4,224E+10	11	3,840E+09		.01 4.54	
total	1,960E+14	21				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

$$CV = 2.89\%$$

Ecuación 4

Tabla 10-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas
(Monitoreo-Verificación).

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T6	9,945E+006	A
T5	5,900E+006	B
T4	2,850E+006	C
T11	2,010E+006	D
T10	1,528E+006	E
T9	2,965E+005	F
T8	2,505E+005	
T2	2,365E+005	
T1	2,130E+005	
T3	2,050E+005	
T7	1,465E+005	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 24 horas (Tabla No 3-5), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo del monitoreo de verificación, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 5102,334$, el coeficiente de variación (**2,89%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-6) mostró que el tratamiento T6 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 9,945E+006, seguido de los tratamientos T5, T4, T11 y T10, mientras que los demás tratamiento presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 11-3 UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Monitoreo-Verificación).

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,612E+24	15	1,866E+23	257,752**	.05 3.01	,000
Error	1,086E+22	14	7,239E+20		.01 4.96	
total	2,623E+24	29				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación 5

$$CV = 16.88\%$$

Tabla 12-3 Prueba Tukey UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Monitoreo-Verificación).

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T10	9,500E+011	A
T8	8,250E+011	B
T15 T14	2,500E+011 1,600E+011	C
T14 T13 T11	1,600E+011 1,000E+011 6,800E+010	D
T13 T11 T16 T5 T6 T12 T4 T1 T2 T3 T9	1,000E+011 6,800E+010 2,350E+010 1,100E+010 1,100E+009 8,100E+007 4,700E+007 1,830E+007 1,375E+007 8,350E+006 5,300E+006	E

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Tabla No 3-7), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el preensayo para determinar la mejor dosificación de Urea-Melaza, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 5102,334$, el coeficiente de variación (**16,88%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-6) mostró que el tratamiento T10 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 9,500E+011, seguido de los tratamientos T8 y T15, mientras que los demás tratamiento presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

3.4 Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g en el preensayo de suelo bio-estimulado (Urea/melaza).

Tabla 13-3 UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 48 horas.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	1,647E+22	12	1,372E+21	342,478**	.05 2.60	,000
Error	5,209E+19	13	4,007E+18		.01 3.96	
total	1,652E+22	25				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

Ecuación 6

$$CV = 23.50\%$$

Tabla 14-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 48 horas

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T6	9,500E+010	A
T8	1,200E+010	B
T10	1,400E+009	C
T5	6,550E+008	
T4	6,000E+008	
T14	4,750E+008	
T2	1,050E+008	
T13	9,850E+007	
T11	6,150E+007	
T9	4,000E+007	
T12	2,830E+007	
T1	1,592E+007	
T3	8,375E+005	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Tabla No 3-9), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el preensayo para determinar la mejor dosificación de Urea-Melaza, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 342,478$, el coeficiente de variación (**23,50%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-10) mostró que el tratamiento T6 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una

media de 9,945E+006, seguido de los tratamientos T8, mientras que los demás tratamiento presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 15-3 UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 72 horas.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,612E+2	15	1,866E+23	257,752 **	.05 2.46	,000
Error	4	14	7,239E+20		.01 3.66	
total	1,086E+2	29				
	2,623E+2					
	4					

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación 7

$$CV = 16.80\%$$

Tabla 16-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo bio-estimulado (Urea/melaza) evaluado a las 72 horas.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T10	9,500E+011	A
T8	8,250E+011	B
T15	2,500E+011	C
T14	1,600E+011	
T14	1,600E+011	D
T13	1,000E+011	
T11	6,800E+010	
T13	1,000E+011	E
T11	6,800E+010	
T16	2,350E+010	
T5	1,100E+010	
T6	1,100E+009	
T12	8,100E+007	
T4	4,700E+007	
T1	1,830E+007	
T2	1,375E+007	
T3	8,350E+006	
T9	5,300E+006	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 72 horas (Tabla No 3-11), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el preensayo para determinar la mejor dosificación de Urea-Melaza, procedentes de los cultivos de frutilla y tomate; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 257,752$, el coeficiente de variación (**16,80%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-12) mostró que el tratamiento T10 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 9,500E+011, seguido de los tratamientos T8, mientras que los demás tratamiento presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

3.5 Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos).

Tabla 17-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,844E+22	3	9,480E+21	75,836 **	.05 6.59	,001
Error	5,000E+20	4	1,250E+20		.01 16.69	
total	2,894E+22	7				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

Ecuación 8

$$CV = 18.40\%$$

Tabla 18-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T4	1,250E+011	A
T6	1,150E+011	
T8	9,650E+008	B
T5	9,650E+008	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 120 horas (Tabla No 3-13), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de frutilla en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 75,836$, el coeficiente de variación (**18,40%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-14) mostró que el tratamiento T4 y T6 tuvieron las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,250E+011 y 1,150E+011 respectivamente, seguido de los tratamientos T8 y T5 que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 19-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	5,230E+24	5	1,046E+24	310,666**	.05 4.39	,000
Error	2,020E+22	6	3,367E+21		.01 8.75	
total	5,250E+24	11				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación 9

$$CV = 17.52\%$$

Tabla 20-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 120 horas en Agar Nutriente.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T2	1,800E+012	A
T6	1,800E+011	B
T8	2,750E+009	
T3	1,750E+009	
T1	9,650E+008	
T5	9,400E+008	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 120 horas (Tabla No 3-15), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de tomate en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 310,666$, el coeficiente de variación (**17,52%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-16) mostró que el tratamiento T2 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,800E+012, seguido de los tratamientos T6, T8, T3, T1 y T5 que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 21-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	1,146E+26	7	1,638E+25	769,139**	.05 2.66	,000
Error	3,407E+23	16	2,129E+22		.01 4.03	
total	1,150E+26	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{Y}} \times 100$$

Ecuación
10

$$CV = 5.06\%$$

Tabla 22-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T1	5,6333E+012	A
T6	5,4000E+012	
T4	5,3000E+012	
T2	3,1333E+012	B
T7	2,1333E+012	C
T3	9,6333E+011	D
T5	4,6000E+011	E
T8	3,9000E+009	F

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 192 horas (Tabla No 3-17), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de frutilla en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 769,139$, el coeficiente de variación (**5,06%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-18) mostró que los tratamientos T1,T6 y T4 tuvieron las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 5,6333E+012;5,4000E+012 y 5,3000E+012, seguido de los tratamientos T2, T7, T3, T5 y T8 que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 23-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	1,943E+26	7	2,775E+25	1583,224**	.05 2.66	,000
Error	2,805E+23	16	1,753E+22		.01 4.03	
total	1,945E+26	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{y} \times 100$$

Ecuación 11

$$CV = 3.47\%$$

Tabla 24-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar Nutriente

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T2	9,6000E+012	A
T7	5,1333E+012	B
T6	5,0333E+012	
T3	4,8667E+012	
T1	3,1667E+012	C
T5	1,4333E+012	D
T4	1,1333E+012	
T8	1,1667E+011	E

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 192 horas (Tabla No 3-19), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de tomate en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 1583,224$, el coeficiente de variación (**3,47%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-20) mostró que el tratamiento T2 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 9,6000E+012, seguido de los tratamientos T7, T6 y T3, que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 25-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar PDA.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	1,411E+21	7	2,015E+20	437,340**	.05 2.66	,000
Error	7,373E+18	16	4,608E+17		.01 4.03	
total	1,418E+21	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

Ecuación
12

$$CV = 7.06\%$$

Tabla 26-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 192 horas en Agar PDA.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T6	1,8333E+010	A
T2	1,8333E+010	
T1	1,8000E+010	
T3	1,1000E+010	B
T7	9,4000E+009	
T8	1,8000E+009	C
T5	0,0000E+000	
T4	0,0000E+000	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 192 horas (Tabla No 3-21), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de

los cultivos de tomate en Agar PDA; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 437,340$, el coeficiente de variación (**7,06%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-22) mostró que los tratamientos T6, T2 y T1 tuvieron las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,8333E+010, seguido de los tratamientos T7 y T3, que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 27-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,570E+26	7	3,671E+25	96,187**	.05 2.66	,000
Error	6,107E+24	16	3,817E+23		.01 4.03	
total	2,631E+26	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

Ecuación
13

$$CV = 8.43\%$$

Tabla 28-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T6	1,1667E+013	A
T1	1,1333E+013	
T6	1,0667E+013	
T7	6,7333E+012	B
T2	6,1333E+012	
T4	5,8333E+012	
T8	3,4000E+012	C
T3	2,8333E+012	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 192 horas (Tabla No 3-23), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de Frutilla en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 96,187$, el coeficiente de variación (**8,43%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-24) mostró que los tratamientos T6 y T1 tuvieron las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,0667E+013, seguido de los tratamientos T7, T2 y T4, que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 29-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,049E+26	7	2,927E+25	52,507**	.05 2.66	,000
Error	8,920E+24	16	5,575E+23		.01 4.03	
total	2,138E+26	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación

14

$$CV = 10.0\%$$

Tabla 30-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar Nutriente.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T2	1,333E+013	A
T8	9,100E+012	B
T6	8,133E+012	
T3	8,133E+012	
T7	7,300E+012	
T7	7,300E+012	C
T1	5,567E+012	
T1	5,567E+012	D
T5	4,233E+012	
T5	4,233E+012	E
T4	3,433E+012	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 360 horas (Tabla No 3-25), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de tomate en Agar Nutriente; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 52,507$, el coeficiente de variación (**10%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-26) mostró que el tratamiento T2 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,333E+013, seguido de los tratamientos T7, T6, T3 y T8, que presentaron poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 31-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	4,453E+24	7	6,362E+23	375,985**	.05 2.66	,000
Error	2,707E+22	16	1,692E+21		.01 4.03	
total	4,480E+24	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{y}} \times 100$$

Ecuación
15

$$CV = 13.7\%$$

Tabla 32-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo frutilla, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T4	1,133E+012	A
T3	9,400E+011	B
T5	1,100E+011	C
T1	9,467E+010	
T8	9,367E+010	
T6	1,800E+010	
T7	0,000E+000	
T2	0,000E+000	

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 360 horas (Tabla No 3-27), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de frutilla en Agar PDA; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 375,985$, el coeficiente de variación (**13,7%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-28) mostró que el tratamiento T4 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de 1,133E+012, seguido de los tratamientos T3, que presenta poblaciones más bajas de microorganismos.

Tabla 33-3 UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.

	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	F. Tabulada	Sig
Tratamientos	2,585E+26	7	3,693E+25	5897,277**	.05 2.66	,000
Error	1,002E+23	16	6,263E+21		.01 4.03	
total	2,586E+26	23				

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\gamma} \times 100$$

Ecuación
16

$$CV = 3.08\%$$

Tabla 34-3 Prueba de Tukey UFC/g de suelo ensayo final (Urea-Melaza y Producción de microorganismos), cultivo tomate, evaluado a las 360 horas en Agar PDA.

Tratamientos	alfa = 0.05	Rango
T8	9,033E+012	A
T7	7,267E+012	B
T4 T1 T6 T5	1,100E+012 1,100E+012 1,067E+012 9,400E+011	C
T3 T2	1,100E+010 9,667E+009	D

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

El Análisis de Varianza (ANOVA) de las UFC/g de suelo evaluado a las 360 horas (Tabla No 3-29), realizado para los datos obtenidos de las muestras de suelo en el ensayo final, procedentes de los cultivos de tomate en Agar PDA; muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con una $F = 5897,277$, el coeficiente de variación (**3,08%**) indica así mismo la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de los tratamientos, consecuentemente la prueba de **Tukey al 0,05%** (Tabla No 3-30) mostró que el tratamiento T8 tuvo las poblaciones más altas de microorganismos con una media de $9,033E+012$, seguido del tratamiento T7, que presenta poblaciones más bajas de microorganismos.

CONCLUSIONES

- Se realizó la caracterización morfo-fisiológica de los grupos predominantes presentes en la microbiota procedente de dos tipos de muestras de suelo de diferentes tipos de cultivos uno de tomate y otro de frutilla.
- Se realizó la purificación y cuantificación de las colonias predominantes presentes en las muestras de suelo; aislando tres tipos de microorganismos presentes en los mismos (bacterias, actinomicetos y hongos) y se codifico cada uno con los códigos mencionados en la metodología, teniendo un total de 132 microorganismos.
- Se realizó la descripción morfo-fisiológica de los grupos predominantes aislados que fueron 132 microorganismos agrupados en bacterias, hongos y actinomicetos; los cuales fueron observados en el microscopio y se determinó la morfología de cada uno; en el caso de las bacterias se utilizó la tinción de Gram para agruparlas en Gram positivas y Gram negativas.
- Se aplicó la bioestimulación a nivel de laboratorio y mediante análisis estadístico se determinó que el mejor tratamiento para el cultivo de tomate fueron los T2 y T8; y para el cultivo de frutilla fueron los T1, T4 y T6 ya que hubo un mayor crecimiento microbiano lo que determina que la fertilidad del suelo es apta para mantener la microbiota y así poder ayudar en la recuperación de los suelos con estos tratamientos estudiados.

RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo las normas de seguridad que conllevan el manejo de microorganismos con el fin de que no exista ningún tipo de contaminación, en el personal de manejo el uso de guantes, mandil, mascarilla, etc.; en cuanto a los contaminantes biológicos cuidar de que no exista ningún derrame o en el caso realizar la limpieza correcta siguiendo las normas del laboratorio; en el caso de los materiales verificar que estén correctamente esterilizados; también para los residuos biológicos esterilizar antes de ser desechados.
- Estudiar los tratamientos de que presentan mayor efectividad en la recuperación de la microbiota de suelos agrícolas para próximas investigaciones.
- Almacenar los microorganismos aislados con el fin de que sean utilizados en posteriores estudios, de manera que se investigue que microorganismo seria excelente para una biorremediación.
- Realizar más pruebas entre las cuales pueden ser las bioquímicas con el fin de estudiar más a fondo las cepas encontradas en la siguiente investigación.

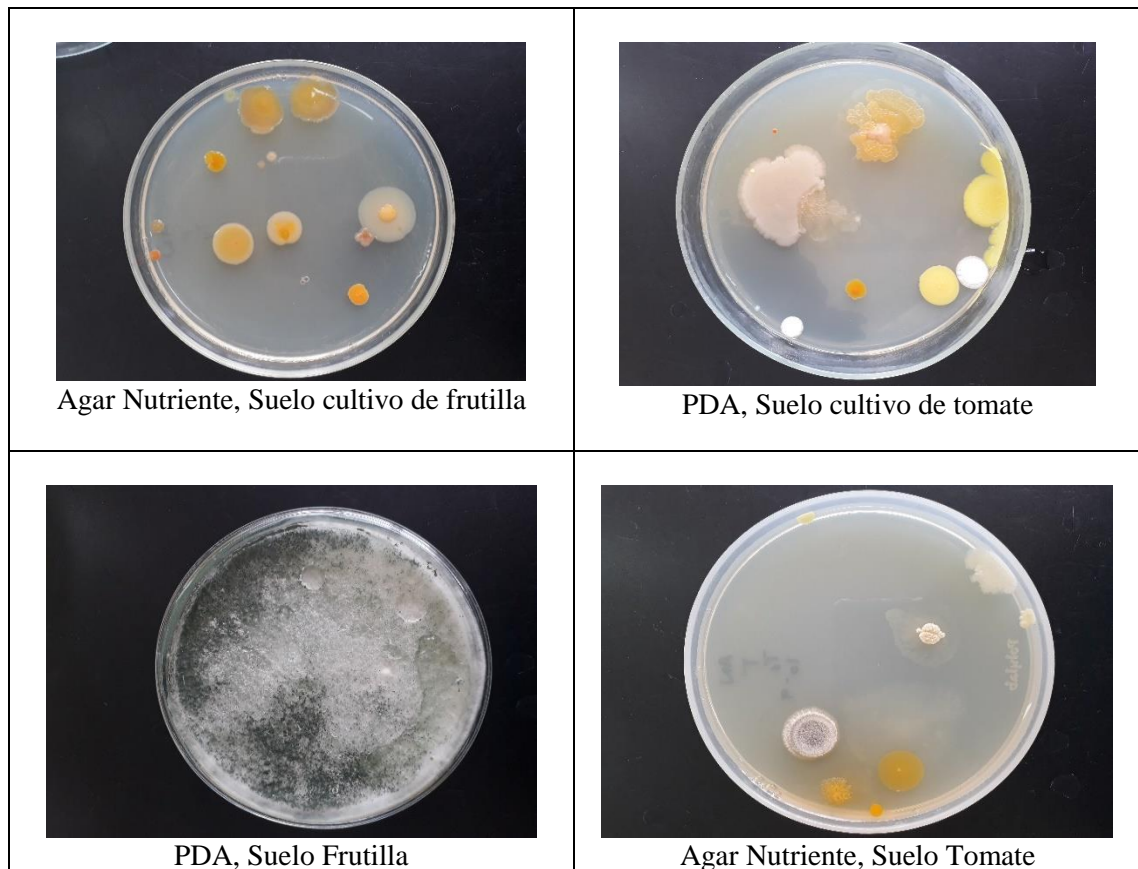
BIBLIOGRAFÍA

1. **ALTMAN, Arie.** *Agricultural Biotechnology*. Primera. New York : MARCEL DEKKER, INC., 2006. ISBN 0-203-07071-2.
2. **BUCKMAN.** *Naturaleza y propiedades de los suelos*. [trad.] R SALORD. Quinta. México : LIMUSA, S.A, 1993. ISBN 968-438-041-0.
3. **Dannemiller, K. C., Weschler, C. J., & Peccia, J.** Fungal and bacterial growth in floor dust at elevated relative humidity levels. *Indoor air*, 27(2), 354-363.
4. **DE LA ROSA, Diego.** *Evaluación Agro-ecológica de Suelos para un desarrollo rural sostenible*. Mundi-Prensa. Madrid : Aedos, S.A, 2008. ISBN 978-84-8476-361-1.
5. **ESPINOZA, Mayra.** *Edafología*. Riobamba : s.n., 2007.
6. **FITZ, Patrick.** *Suelos*. Segunda. Madrid : CECSA, 1996.
7. **GARCÍA , Pilar, y otros.** *Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España*. [ed.] Ministerio de Ambiente y Medio Rural y Marino. España : s.n., 2010. ISBN 978-84-491-0997-3.
8. **HUDSON, Norman.** *CONservación del suelo*. España : REVERTÉ S.A, 1982. ISBN 84-2911027-5.
9. **MECO, Ramón, LACASTA , Carlos y MORENO, Marta.** *Agricultura ecológica en seco*. Mundi-Prensa, S.A. España : s.n., 2012. ISBN 978-84-8476-539-4.
10. **RITTMANN, Bruce y McCARTY, Perry.** *Bioteología del Medio Ambiente. Principios y aplicaciones*. [ed.] Antonio García . España : McGraw-Hill, 2001. ISBN 84-481-3280-7.

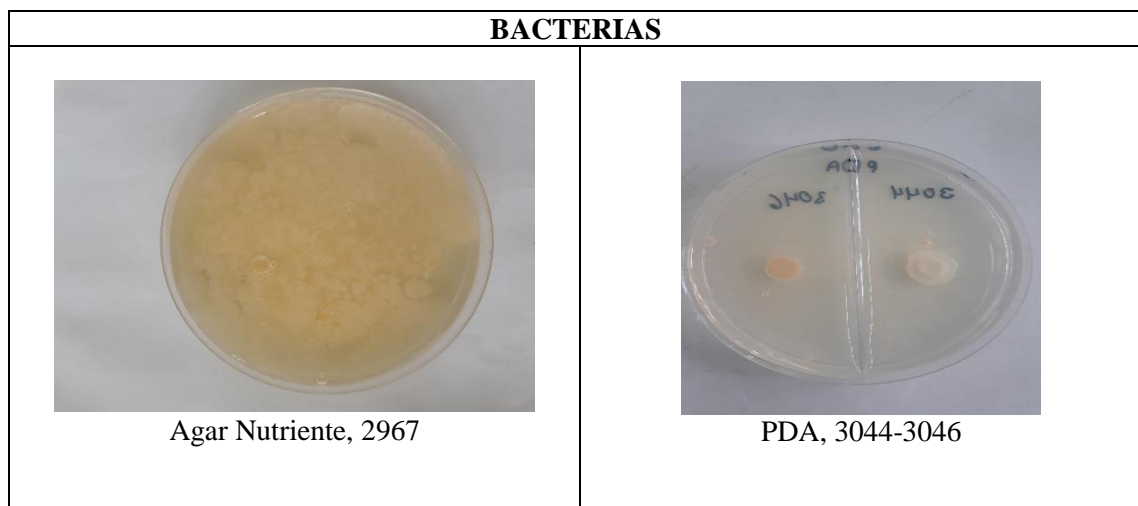
11. **SAVAL, S.** (1999). Éxitos y fracasos de la remediación de suelos. *Conservación y Restauración de Suelos*. UNAM, PUMA, SEMARNAP, Editores: Christina Siebe et al., México, 511-526.
12. **SINGH, Ajay, PARMAR, Nagina y KUHAD, Ramesh.** *Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol*. London : SPRINGER, 2011. Vol. 28. ISBN 978-3-642-19769-7.
13. **SOSA, D.** (2012). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Manejo de Suelos. Técnicas de toma y remisión de muestras de suelo. Argentina.
14. **STABLER, M.** *Agricultural Economics and Rural Land-Use*. New York : THE MACMILLAN PRESS LTD, 1975.
15. **TOLEDO, Jorge.** *Manejo integral de plagas*. Primera. México : Trillas, S.A, 2008. ISBN 978-968-24-8324-0.
16. **TORRES, Edmundo.** *Manual de conservación de suelos agrícolas*. Segunda. México : DIANA, S.A, 1984. ISBN 968-13-0332-X.
17. **YÁNEZ, Guido.** *Manual técnico para la Gestión Integral de plaguicidas*. Primera. Quito : s.n., 2008.





ANEXOS

ANEXO A Registro fotográfico conteo inicial de UFC/ g suelo

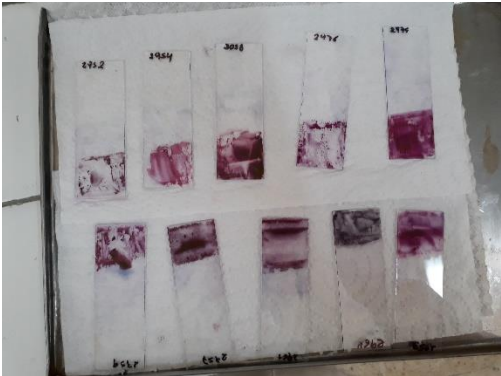
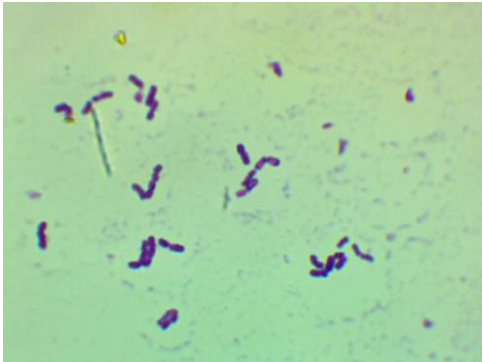


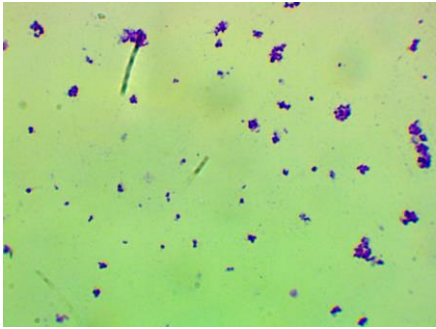

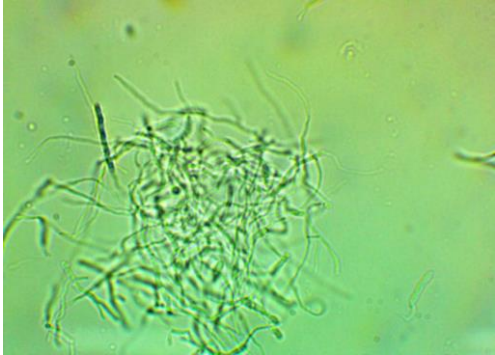



ANEXO B Registro Fotográfico aislamiento y purificación de microorganismos






HONGOS	
 <p>PDA, 2998-2999</p>	 <p>PDA, 3003-3004</p>
ACTINOMICETOS	
 <p>PDA, 3018</p>	 <p>PDA, 3029</p>

ANEXO C Registro fotográfico observación de microorganismos en el microscopio


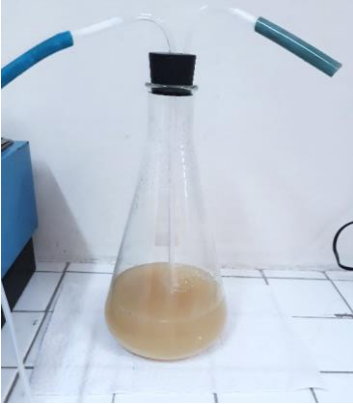

BACTERIAS TINCIÓN DE GRAM	
 <p>Placas Tinción de Gram</p>	 <p>Bacilos Gram +</p>

 <p>Cocos Gram +</p>	 <p>Bacilos Gram -</p>
<p>ACTINOMICETOS</p>	
 <p>2987</p>	 <p>3002</p>
<p>HONGOS</p>	
 <p>2997</p>	 <p>3001</p>




ANEXO D Instalación de Pre ensayo para determinar el porcentaje Urea-Melaza en la Bioestimulación.

 <p>Urea-Melaza puros</p>	 <p>Urea-Melaza al 40-60%; 60-40%; 50-50%.</p>	 <p>Aplicación de los nutrientes en los diferentes tratamientos.</p>
--	---	---

ANEXO E Preparación de Pulls microbianos para aplicar en la bioestimulación.

 <p>Pull Bacteriano</p>	 <p>Pull de Actinomicetos</p>	 <p>Pull de Hongos</p>
--	---	---

ANEXO F Instalación Ensayo Final

 <p>Aplicación de los porcentajes Urea-Melaza determinados en los diferentes tratamientos.</p>	 <p>Aplicación de los pulls de acuerdo a los tratamientos establecidos.</p>	 <p>Instalación final de los diferentes tratamientos.</p>
---	--	--

ANEXO G Folleto_caracterización_morfofisiológica_microbiota

FOLLETO_CARACTERIZACIÓN_MORFOFISIOLÓGICA_MICROBIOTA.docx

ANEXO H Resultados de la purificación y caracterización morfo-fisiológica de la microbiota estudiada

Nº	CODIFICACIÓN 1	CODIFICACIÓN 2 DCB	CARACTERIZACIÓN MORFO- FISIOLÓGICA
1	T1	2951	HONGO
2	T2r	2952	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
3	T2rr	2953	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
4	T3	2954	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
5	T4	2955	HONGO
6	T5	2956	ACTINOMICETO
7	T6r	2957	BACTERIA;ESTREPTOBACILO NEGATIVO
8	T6rr	2958	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
9	T7	2959	BACTERIA;DIPLOCOCO ENCAPSULADO NEGATIVO
10	T8r	2960	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
11	T8rr	2961	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
12	T9	2962	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
13	T10	2963	ACTINOMICETO

14	T11r	2964	BACTERIA;COCO POSITIVO
15	T12r	2965	HONGO
16	T12rr	2966	HONGO
17	T13	2967	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
18	T14r	2968	ACTINOMICETO
19	T14rr	2969	ACTINOMICETO
20	T15	2970	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
21	T16	2971	ACTINOMICETO
22	T17	2972	ACTINOMICETO
23	T18	2973	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
24	T19	2974	BACTERIA;COCOBACILO POSITIVO
25	T20	2975	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
26	T21	2976	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
27	T22	2977	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
28	T23	2978	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
29	T24	2979	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
30	T25	2980	BACTERIA;ESTREPTOBACILO NEGATIVO
31	T26	2981	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
32	T27	2982	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
33	T28	2983	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
34	T29	2984	BACTERIA;COCO NEGATIVO
35	T29r	2985	ACTINOMICETO
36	T30r	2986	HONGO
37	T30rr	2987	ACTINOMICETO
38	T31	2988	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
39	T32	2989	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
40	T33	2990	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
41	T34	2991	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
42	T35	2992	BACTERIA;COCO POSITIVO
43	F36r	2993	HONGO
44	F37r	2994	HONGO
45	F37rr	2995	HONGO
46	F37rrr	2996	HONGO
47	F38r	2997	HONGO
48	F38rr	2998	HONGO

49	F39	2999	HONGO
50	F40r	3000	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
51	F40rr	3001	HONGO
52	F41	3002	ACTINOMICETO
53	F42r	3003	HONGO
54	F44r	3004	HONGO
55	F44rr	3005	HONGO
56	F45	3006	HONGO
57	F46r	3007	HONGO
58	F47	3008	HONGO
59	F48	3009	BACTERIA;ESTREPTOCOCO POSITIVO
60	F49	3010	HONGO
61	F50	3011	HONGO
62	F51r	3012	BACTERIA;ESTREPTOBACILO NEGATIVO
63	F52r	3013	ACTINOMICETO
64	F53	3014	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
65	F54	3015	ACTINOMICETO
66	F55	3016	BACTERIA;COCO NEGATIVO
67	F56r	3017	ACTINOMICETO
68	F57r	3018	ACTINOMICETO
69	F57rr	3019	HONGO
70	F58r	3020	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
71	F58rr	3021	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
72	F60	3022	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
73	F61r	3023	BACTERIA;COCO NEGATIVO
74	F61rr	3024	ACTINOMICETO
75	F62	3025	BACTERIA;ESTREPTOBACILO NEGATIVO
76	F63	3026	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
77	F64	3027	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
78	F65	3028	HONGO
79	F66	3029	ACTINOMICETO
80	F67	3030	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
81	F68	3031	HONGO
82	F69r	3032	BACTERIA;COCO NEGATIVO
83	F69rr	3033	BACTERIA;COCO NEGATIVO

84	F70	3034	HONGO
85	F71	3035	BACTERIA;COCO NEGATIVO
86	F72	3036	ACTINOMICETO
87	F73	3037	BACTERIA;ESTREPTOCOCO NEGATIVO
88	F74	3038	HONGO
89	F75r	3039	BACTERIA;COCO NEGATIVO
90	F75rr	3040	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
91	F76	3041	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
92	F77r	3042	BACTERIA;COCOBACILO POSITIVO
93	F77rr	3043	HONGO
94	F78	3044	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
95	F79	3045	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
96	F80	3046	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
97	F81	3047	BACTERIA;COCOBACILO POSITIVO
98	F82	3048	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
99	F83	3049	ACTINOMICETO
100	F84	3050	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
101	F85	3051	BACTERIA;COCOBACILO POSITIVO
102	F86	3052	ACTINOMICETO/BACTERIA;COCO POSITIVO
103	F87	3053	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
104	F89r	3054	ACTINOMICETO
105	F89rr	3055	HONGO
106	F90	3056	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
107	F91	3057	ACTINOMICETO
108	F92	3058	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
109	F93	3059	ACTINOMICETO
110	F94	3060	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
111	T95	3061	BACTERIA;COCO POSITIVO
112	T96	3062	ACTINOMICETO
113	T97	3063	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
114	T98	3064	ACTINOMICETO
115	T99	3065	BACTERIA;COCO NEGATIVO
116	T100	3066	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
117	T101	3067	BACTERIA;BACILO NEGATIVO

118	T102	3068	BACTERIA;COCO NEGATIVO
119	T3rr	3069	HONGO
120	T22rr	3070	ACTINOMICETO
121	F42rr	3071	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
122	F59	3072	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
123	F88	3073	ACTINOMICETO
124	T9rr	3074	ACTINOMICETO
125	T9r	3075	BACTERIA;BACILO POSITIVO
126	T4rr	3076	HONGO
127	T1r	3077	BACTERIA;COCOBACILO NEGATIVO
128	F103	3078	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
129	F80rr	3079	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
130	F104	3080	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
131	F104rr	3081	BACTERIA;BACILO NEGATIVO
132	T97rr	3082	BACTERIA;COCO NEGATIVO

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

ANEXO I Resultado final caracterización microscópica bacterias

BACTERIAS					
COCOS	BACILOS	COCO BACILOS	ESTREPTO BACILOS	DIPLOCOCOS ENCAPSULADOS	ESTREPTO COCOS
2964+;2984-; ;2992+;3016-;3023-; ;3032-;3033-;3035-; ;3039-; ;3052+;3061+;3065-; ;3068-;3082-	2952-;2954-; ;2960-;2961-; ;2967-;2970-; ;2973-;2977-; ;2979-;2981-; ;2989-;3000-; ;3022-;3026-; ;3030-;3040-; ;3041-;3044-; ;3045-;3046-; ;3048-;3058-; ;3067-;3071-; ;3072-; ;3075+;3078-; ;3079-;3080-; ;3081-	2953-;2958-;2962-; ;2974+;2975-;2976-; ;2978-;2982-;2983-; ;2990-;2991-;3014-; ;3020-;3021-;3027-; ;3042+;3047+;3050-; ;3051+;3053-;3056-; ;3060-;3063-;3066-; ;3077.	2957-;2980-; ;3012 - ;3025-	2959-	3009+;3037-
14	30	26	4	1	2

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

ANEXO J Resultado final caracterización microscópica hongos

HONGOS					
CODIGO	ESPORAS	HIFAS	CODIGO	ESPORAS	HIFAS
2951	Septada	Haustorios	3005	Globosa	Con septos
2955	Elipsoidal	Con septos	3006	Lagrimada	Apresorios
2965	Globosa	Con septos	3007	Globosa	Haustorios
2966	Globosa	Sin septos	3008	Globosa	Con septos
2986	Punteadas	Sin septos	3010	Globosa	Con septos
2993	Lisa	Prosenquima	3011	Cilíndrica	Sin septos
2994	Globosa	Con septos	3019	Globosa	Sin septos
2995	Asalchichada	Sin septos	3028	Globosa	Sin septos
2996	Asalchichada	Apresorios	3031	Globosa	Haustorios
2997	Asalchichada	Apresorios	3034	Verrugosas	Haustorios
2998	Asalchichada	Rizoides	3038	Fusiforme	Sin septos
2999	Globosa	Prosenquima	3043	Asalchichada	Con septos
3001	Globosa	Apresorios	3055	Globosa	Prosenquima
3003	Globosa	Haustorios	3069	Cilíndrica	Sin septos
3004	Globosa	Con septos	3076	Globosa	Con septos

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018

ANEXO K Resultado final caracterización microscópica actinomicetos

ACTINOMICETOS					
CODIGO	ESPORAS	HIFAS	CODIGO	ESPORAS	HIFAS
2956	Punteadas	Sin septos	3024	Globosa	Sin septos
2963	Globosa	Prosenquima	3029	Globosa	Prosenquima
2968	Cilíndrica	Con septos	3036	Globosa	Sin septos
2969	Globosa	Pseudoparénquima	3049	Globosa	Prosenquima
2971	Globosa	Prosenquima	3052	Globosa	Sin septos
2972	Globosa	Pseudoparénquima	3054	Globosa	Haustorios
2985	Globosa	Sin septos	3057	Globosa	Pseudoparénquima
2987	Globosa	Prosenquima	3059	Lagrimada	Sin septos
3002	Cilíndrica	Sin septos	3062	Globosa	Sin septos
3013	Ovoide	Prosenquima	3064	Globosa	Pseudoparénquima
3015	Globosa	Pseudoparénquima	3070	Globosa	Sin septos
3017	Levaduras	Sin septos	3073	Globosa	Sin septos
3018	Lagrimada	Sin septos	3074	Globosa	Haustorios

Realizado por: Duman, Nathaly, 2018